

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS DE CURITIBANOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
João Vitor Berner Pereira

APLICAÇÃO DO DELINEAMENTO EM BLOCOS INCOMPLETOS BALANCEADOS  
PARA AVALIAR O EFEITO DA INOCULAÇÃO NA CULTURA DO MILHO A CAMPO

Curitibanos

2018

João Vitor Berner Pereira

**APLICAÇÃO DO DELINEAMENTO EM BLOCOS INCOMPLETOS  
BALANCEADOS PARA AVALIAR O EFEITO DA INOCULAÇÃO NA CULTURA  
DO MILHO A CAMPO**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Rurais, Campus de Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do Título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Crysttian Arantes Paixão  
Coorientadora: Prof. Dr. Sonia Purin da Cruz

Curitibanos

2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Pereira, João Vitor Berner

Aplicação do delineamento em blocos incompletos  
balanceados para avaliar o efeito da inoculação na cultura  
do milho a campo / João Vitor Berner Pereira ; orientador,  
Crysttian Arantes Paixão, coorientadora, Sonia Purin da  
Cruz, 2018.

66 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus  
Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2018.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Tamanho do bloco. 3. Número elevado de  
tratamentos. 4. Produtividade. I. Paixão, Crysttian  
Arantes . II. Cruz, Sonia Purin da . III. Universidade  
Federal de Santa Catarina. Graduação em Agronomia. IV.  
Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia**

Rodovia Ulysses Gaboardi km3

CP: 101 CEP: 89520-000 - Curitibanos - SC

TELEFONE (048) 3721-2176 E-mail: agronomia.cts@contato.ufsc.br.

**JOÃO VITOR BERNER PEREIRA**

**APLICAÇÃO DO DELINEAMENTO EM BLOCOS INCOMPLETOS BALANCEADOS PARA  
AVALIAR O EFEITO DA INOCULAÇÃO NA CULTURA DO MILHO A CAMPO**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia.

Curitibanos, 06 de novembro de 2018.

Profa. Dra. Elis Borcioni  
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Crystian Arantes Paixão  
Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Lirio Luiz Dal Vesco  
Membro da banca examinadora

Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Sonia Purin da Cruz  
Membro da banca examinadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes”

Isaac Newton

## RESUMO

A metodologia do delineamento em blocos casualizados (DBC) é usualmente utilizada para a implantação de experimentos a campo. Esse delineamento tem como premissa a utilização de blocos para a alocação das unidades experimentais. Os blocos, por definição, devem possuir condições homogêneas e quando se tem um número elevado de tratamentos, como o caso do uso de inoculantes, existe a propensão de que ele se torne heterogêneo, inviabilizando a adoção do DBC. Com o intuito de contornar essa problemática, faz-se o uso do delineamento em blocos incompletos balanceados (BIB). Ao invés do bloco receber todos os tratamentos, apenas alguns são alocados e ao final da análise torna-se possível avaliar o experimento. O inoculante associado ao milho (*Zea mays*) atua em uma relação simbiótica interespecífica harmônica, onde ambos são beneficiados. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o uso do delineamento em BIB em um experimento sobre o efeito da inoculação na produtividade na cultura do milho. O experimento foi implantado em 2017 em Frei Rogério/SC. Ao todo, 10 tratamentos foram estudados, dispostos em 6 repetições, totalizando 15 blocos. Cada bloco possuía 4 parcelas com as dimensões de 10 x 2,5 m, logo a eficiência desta disposição do experimento foi de 83,33% comparado com o DBC. Os tratamentos em questão foram: T1: Testemunha, sem inoculação e nem adubação nitrogenada; T2: 75 % da dose nitrogenada, sem inoculação; T3: *Azospirillum* (AZO) + *Bacillus licheniformis* (BL); T4: 75% N + *Pseudomonas fluorescens* (PF); T5: 75% N + *Bacillus subtilis* (BS); T6: 75% N + *Bacillus pumilus* (BP); T7: 75% N + *Bacillus licheniformis* (BL); T8: 75% N + *Bacillus amyloliquefaciens* (BA); T9: 75% N + AZO; T10: 75% N + AZO + BS. Os resultados, sendo estes: diâmetros de colmo em V3 e R1, altura de inserção da primeira espiga, altura total das plantas, massa seca da parte aérea e de mil grãos, teor de N da foliar e dos grãos e a produtividade foram submetidos à análise Interbloco do Tipo III. Valores significativos foram comparadas pelo teste de média Tukey, ao nível de 10% de significância. Com o uso do BIB, houve uma redução de 60% do tamanho do bloco, diminuindo as chances da ocorrência de heterogeneidade ambiental dentro do bloco. Contudo, nas condições de estudo a inoculação com o uso BS (T5) e a coinoculação de AZO + BS (T10), influenciaram, respectivamente, os dados da massa da parte aérea seca e da matéria seca de mil grãos. Concluindo que o uso do BIB foi efetivo e de que a inoculação tende a aumentar as variáveis produtivas. Contudo, torna-se imprescindível a realização de novos experimentos a campo avaliando os efeitos da inoculação a fim de obter mais resultados desta tecnologia na cultura do milho.

**Palavras-chaves:** blocos incompletos; milho, inoculação.

## ABSTRACT

The randomized complete block design (RCDB) methodology is usually used for field experiments. This design has as a premise the use of blocks for an allocation of experimental units. Blocks, for example, should receive homogeneous conditions and when a large number of treatments, such as the use of inoculants, there is a propensity for it to become heterogeneous, making it impossible to adopt RCDB. In order to overcome this problem, we use the resolvable incomplete block design (RIBD). The last block of all treatments is only some allocated and the end of the analysis makes it possible to evaluate the experiment. The inoculant associated with corn (*Zea mays*) acts in a symbiotic interspecific harmonic relationship, where both are benefited. The present work aims to evaluate the use of the design in BIBD in an experiment on the effect of the inoculation on the productivity in the maize crop. The experiment was carried on in 2017 in Frei Rogério/SC. Ten treatments were studied, with 6 repetitions, resulting in fifteen blocks. Treatments included one control and nine different inoculation methods or bacterial species. Each block had 4 experimental units (10 m x 2,5 m), hence the disposal efficiency was 83.33% compared to RIBD: T1: Witness, without inoculation and neither nitrogen fertilization; T2: nitrogen rate of 75% of the rate, without inoculation; T3: *Azospirillum* (AZO) + *Bacillus licheniformis* (BL); T4: 75% N + *Pseudomonas fluorescens* (PF); T5: 75% N + *Bacillus subtilis* (BS); T6: 75% N + *Bacillus pumilus* (BP); T7: 75% N + *Bacillus licheniformis* (BL); T8: 75% N + *Bacillus amyloliquefaciens* (BA); T9: 75% N + AZO; T10: 75% N + AZO + BS. The results were as follows: stem diameters in V3 and R1, height of insertion of the first ear, total height of the plants, dry mass of the shoot and of a thousand grains, N content of the leaf and grain and productivity were submitted to Interblock Analysis Type III. Significant values were compared by the Tukey test, with a significance level of 10%. With the use of RIBD, there was a reduction of 60% of the block size, reducing the chances of occurrence of environmental heterogeneity within the block. However, in the study conditions, inoculation with BS (T5) and co-inoculation of AZO + BS (T10), respectively, influenced the dry mass and the dry matter mass of one thousand grains. Concluding that the use of RIBD was effective and that inoculation tended to increase the productive variables. However, it is imperative that new experiments be carried out in the field, evaluating the effects of inoculation, in order to obtain more results of this technology in the maize crop.

**Keywords:** Incomplete blocks; Corn; Inoculation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Representação de blocos. A coloração representa a fertilidade do solo, percebe-se o seu gradiente conforme o aumento das dimensões do bloco, destacando que o uso de um bloco com menores dimensões contorna esta problemática, correspondendo ao bloco ideal.....	17
<b>Figura 2</b> – Imagem do Município de Frei Rogério na messorregião serrana de Santa Catarina, o ponto destaca o Município.....	31
<b>Figura 3</b> – Gráfico gerado a partir dos dados de diários de precipitação, temperatura máxima, média e mínima de Curitiba – SC, 2017-2018, representando ainda os respectivos estádios fenológicos do florescimento e sua data.....	32
<b>Figura 4</b> – Croqui experimental com 83,33% de eficiência implantado a campo sem os espaçamentos entre parcelas, ilustrando as parcelas. Frei Rogério – SC, 2017. ....	35
<b>Figura 5</b> – Fotografias de Inoculação de sementes. Processo de pipetagem no momento da inoculação das sementes e o inoculante em mãos (A), processo de pulverização em V3 do tratamento T9 (B), calda do tratamento sendo diluída (C), inoculação de sementes pós homogeneização (D).....	37



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – ANOVA de um DBC preenchida com as respectivas fontes de variações.....	19
<b>Tabela 2</b> – ANOVA de um BIB completa para análises interbloco e intrabloco preenchida com suas respectivas fontes de variações. ....	25
<b>Tabela 3</b> - Análise de solo do local de experimentação na profundidade de 0-20 cm. ....	32
<b>Tabela 4</b> - Disposição do croqui experimental escolhido com 83,33% de Eficiência com sua devida casualização dos tratamentos para implementação a campo. ....	34
<b>Tabela 5</b> - Cálculo das possibilidades de elaboração do croqui para a implementação do experimento na cultura do milho a campo com 10 tratamentos. ....	40
<b>Tabela 6</b> - Tabela de valores das médias ajustadas do diâmetro de colmo do milho no estágio V3 (mm) e no estágio R1 (cm) submetidas aos tratamentos. Curitiba, SC, safra 2017/2018. ....	42
<b>Tabela 7</b> - Tabela de valores das médias ajustadas de estatura total (m) e estatura de inserção da primeira espiga (m) de plantas de milho submetidas aos tratamentos. Curitiba, SC, safra 2017/2018. ....	44
<b>Tabela 8</b> - Tabela de valores das médias ajustadas do nitrogênio foliar ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e massa da parte aérea seca de plantas de milho submetidas aos tratamentos. Curitiba, SC, safra 2017/2018. ....	47
<b>Tabela 9</b> - Tabela de valores das médias ajustadas do nitrogênio do grão ( $\text{g kg}^{-1}$ ), massa de mil grãos (g) e produtividade ( $\text{kg/ha}$ ) de plantas de milho submetidas aos tratamentos. Curitiba, SC, safra 2017/2018. ....	50

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
1.1	OBJETIVOS.....	14
1.1.1	<b>Objetivos Gerais .....</b>	<b>14</b>
1.1.2	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>15</b>
2.1	EXPERIMENTAÇÃO E O SEU PLANEJAMENTO .....	15
2.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	16
2.2.1	<b>Delineamento em Blocos Casualizados Balanceados.....</b>	<b>16</b>
2.2.1.1	Estrutura da análise de variância (ANOVA) do Delineamento em Blocos Casualizados .....	17
2.2.2	<b>Delineamento em Blocos Incompletos Balanceados .....</b>	<b>20</b>
2.2.2.1	Estrutura da análise de variância – ANOVA do Delineamento em Blocos Incompletos .....	21
2.3	CARACTERIZAÇÃO DO MILHO E SUA IMPORTÂNCIA ECONÔMICA .....	26
2.4	BACTERIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E FIXADORAS DE NITROGÊNIO .....	27
2.5.1	<b>Inoculação de sementes e o gênero <i>Azospirillum</i> associadas à família Poaceae .</b>	<b>28</b>
2.5.2	<b>Outros gêneros de bactérias diazotróficas usados na inoculação com potencial a ser explorado .....</b>	<b>29</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
3.2	ESCOLHA DO CROQUI E O DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	33
3.3	CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO A CAMPO E TRATAMENTOS .....	35
3.4	COLETA E AVALIAÇÃO DOS DADOS .....	38
3.4.1	<b>Coleta do diâmetro em V3 .....</b>	<b>38</b>
3.4.2	<b>Coleta de dados em R1 .....</b>	<b>38</b>
3.4.3	<b>Coleta de dados em R6 .....</b>	<b>39</b>
3.5	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA .....</b>	<b>39</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
4.1	ESCOLHA DO DELINEAMENTO E SUA COMPARAÇÃO DO DELINEAMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS .....	40

4.2	DIÂMETRO DE COLMO EM V3 E R1 .....	41
4.3	ESTATURA TOTAL E DE INSERÇÃO DA PRIMEIRA ESPIGA.....	43
4.4	NITROGÊNIO FOLIAR E MASSA DA PARTE AÉREA SECA.....	46
4.5	NITROGÊNIO, MASSA DE MIL GRÃOS E PRODUTIVIDADE .....	49
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>56</b>
<b>ANEXO A.....</b>		<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Experimentos conduzidos a campo necessitam de um lugar prévio para sua implementação, principalmente quando o mesmo busca fazer do estudo de tratamentos, sendo este, doses, métodos, espaçamentos, cultivares, etc. Para isso, comumente o Delineamento em Blocos Balanceados - DBC é utilizado. Entretanto, pode-se existir casos em que pela conformação da área experimental e pelo número de elevado número de tratamentos a constituírem o bloco, este delineamento não é indicado (PIMENTEL-GOMES, 2009).

O número elevado de tratamentos tende a aumentar a área experimental em relação ao tamanho do bloco. Diante disso, existe uma grande dificuldade em se encontrar áreas homogêneas em toda sua extensão, capazes de abrigar um bloco. Este paradigma se dá normalmente pela grande variação ambiental, principalmente devido ao relevo e ao solo. Assim, tem-se uma tendência de se aumentar o erro experimental pelo fato de que quanto maior o bloco, a probabilidade de homogeneidade dele diminui. (RAMALHO; FERREIRA; OLIVEIRA, 2005, PIMENTEL-GOMES, 2009).

Com o propósito de contornar esta problemática, Yates (1936) propôs a utilização do Delineamento em Blocos Incompletos Balanceados - BIB (YATES, 1936 citado por RAMALHO, FERREIRA, OLIVEIRA, 2005). Esta escolha tem como propósito permitir a avaliação, considerando um número elevado de tratamentos. Logo, permite-se realizar a análise, otimizando os recursos de implantação, obtendo-se as respostas com a mesma precisão de outros delineamentos.

O BIB é caracterizado por não apresentar todos os tratamentos dentro do bloco e uma vez que o número de tratamentos excede o número de unidades experimentais, ou seja, parcelas dentro do bloco. A aplicação do BIB permite a conformação do croqui experimental, mesmo com um número elevado de tratamentos e pode ser o adequado para algumas situações de experimentação a campo (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Tanto para o milho (*Zea mays*) como para a soja (*Glycine max*) o que ocorre é uma interação simbiótica, tal que se diferenciam uma da outra. Entretanto, as pesquisas relacionadas à inoculação do milho, quando comparadas com a cultura da soja, estão na sua fase inicial. Portanto, demanda-se inúmeros esforços no desenvolvimento de novas pesquisas, entre elas a experimentação de gêneros de bactérias a campo, resultando em um número elevado de tratamentos, demandando análises estatísticas alternativas, consistentes e que permitam avaliar os efeitos do número elevado de tratamentos.

Estudos apontam de que o milho, quando inoculado beneficia-se da simbiose interespecífica não obrigatória harmonia pela produção de hormônios destinados à planta que induzem o seu crescimento, e também pela fixação biológica de nitrogênio. Logo o nitrogênio fica prontamente disponível para a planta, podendo gerar um acréscimo nas variáveis produtivas (ECKERT et al., 2001; VINHAL-FREITAS, RODRIGUES, 2010).

Agronomicamente a característica de maior interesse é a produtividade por área com a intenção de suprir a demanda mundial do cereal, que é dos mais cultivados no mundo, possuindo grande destaque no cenário Brasileiro (CONAB, 2017).

Este cereal na safra de 2016/2017 em relação à área destinada para a produção deu-se de 17.346,5 mil hectares e a sua produtividade média na mesma safra está estimada em 5.409 kg/ha (CONAB, 2017). Entretanto, apesar do milho ser cultivado mundialmente e ter uma grande importância nacional e mundial, sua produtividade média no Brasil ainda é consideravelmente baixa, uma vez que há relatos de que o potencial produtivo da cultura é de aproximadamente 19.000 kg/ha (OLIVEIRA et al., 2013).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivos Gerais

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o uso do delineamento em blocos incompletos balanceados – BIB em um experimento sobre o efeito da inoculação na produtividade na cultura do milho.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

**Os objetivos específicos deste trabalho são:**

- Determinar o melhor tipo de delineamento em blocos incompletos balanceados (BIB) a ser implantado;
- Identificar o(s) melhor(es) tratamentos(s) (inoculantes) com base nos parâmetros avaliados;
- Avaliar a influência da utilização dos inoculantes no incremento da produtividade do milho;

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 EXPERIMENTAÇÃO E O SEU PLANEJAMENTO

O método experimental remonta-se a pelos menos 4 séculos antes de Cristo, onde Aristóteles (384-322 a.C.), com base na experimentação, fez-se descobertas ao mundo natural, mas já a pesquisa experimental é atribuída ao filósofo inglês Francis Bacon (1561-1626) no século XVIII e a experimentação agrícola teve início no final do século XVIII, após a revolução industrial. Com a necessidade de alimentar a população urbana em crescimento, a química voltada à nutrição de planta, tornou-se imprescindível (CORRÊA, 2007).

Consequentemente outras pesquisas foram criadas, como as de Fisher que aprimoram a experimentação agrícola, enfatizando o papel da repetição para estimação do erro, evidenciando o verdadeiro efeito experimentado, de modo a permitir a verificação das variáveis respostas, descrevendo o que foi conhecido como delineamento. O mais conhecido na área da experimentação agrícola é o Delineamento em Blocos Casualizados - DBC (CORRÊA, 2007).

O trabalho de Fisher desencadeou outras pesquisas, como a de Frank Yates (1902-1994) que desenvolveu outros delineamentos, como o delineamento em blocos incompletos e reticulados, e ainda esquemas fatoriais que se tornaram valiosos em experimentos de melhoramento genético de plantas e em situações em que o tamanho do bloco é um fator limitante (CORRÊA, 2007).

A relevância desses trabalhos fez com que fossem adotados em outras áreas da Ciência, tanto é, por exemplo, designações de bloco, parcela e tratamento perderam as conotações particulares da Agricultura. São nestas designações, que o uso de condições controladas devem ser impostas na implementação do experimento, como o controle local do bloco, para que o experimentador possa provocar fenômenos, observando e analisando suas reações (SOUZA et al., 2002; CORRÊA, 2007).

Lembrando que toda a experimentação deve passar primeiramente pelo seu planejamento. Nesta etapa, a área experimental é escolhida, dando sequência à definição das unidades experimentais que dependem do número de repetições, de tratamentos e ainda do controle local tomado em questão. Conforme estas especificações, o experimentador deve escolher o delineamento mais pertinente a sua realidade. O uso de um delineamento se dá pelo

fato de que em todas as análises de estatística existem fatores que não são controlados. Esses fatores causarão variações no experimento e deverão ser controlados para a inferência real do verdadeiro efeito que é causado pelo tratamento (TREVISOL; COSME, 2013).

## 2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os delineamentos mais utilizados são: inteiramente casualizados - DIC, blocos casualizados - DBC e quadrados latinos - DQL e as suas variações utilizando a metodologia de esquemas fatoriais. Somente esses delineamentos não são suficientes para implementar todos os experimentos, considerando a otimização dos recursos em certas situações. Logo, existem metodologias alternativas, como o uso do delineamento em Blocos Incompleto Balanceados - BIB (RAMALHO; FERREIRA; OLIVEIRA, 2005).

### 2.2.1 Delineamento em Blocos Casualizados Balanceados

Este delineamento possui como característica principal de que as unidades experimentais ou parcelas são alocadas dentro dos blocos, permitindo o isolamento de uma fonte de variação conhecida previamente. Isso permite o aumento nas estimativas das medições a serem realizadas nas variáveis respostas. O número de blocos é determinado pelo número de repetições dos tratamentos (RAMALHO; FERREIRA; OLIVEIRA, 2005, PIMENTEL-GOMES, 2009).

Conforme o nome deste delineamento, temos a interpretação de que o bloco é casualizado, mas as parcelas de cada bloco são casualizadas, associados ainda ao controle local, que consiste no próprio uso do bloco. Os blocos podem ter um certo nível de diferença diferenças entre si, mas não podem apresentar diferença dentro de si, pois esta é eliminada da estimativa da variância do erro experimental. Assim, tem-se uma preocupação para que a variação se situe entre os blocos e não dentro dos mesmos (RAMALHO; FERREIRA; OLIVEIRA, 2005, PIMENTEL-GOMES, 2009).

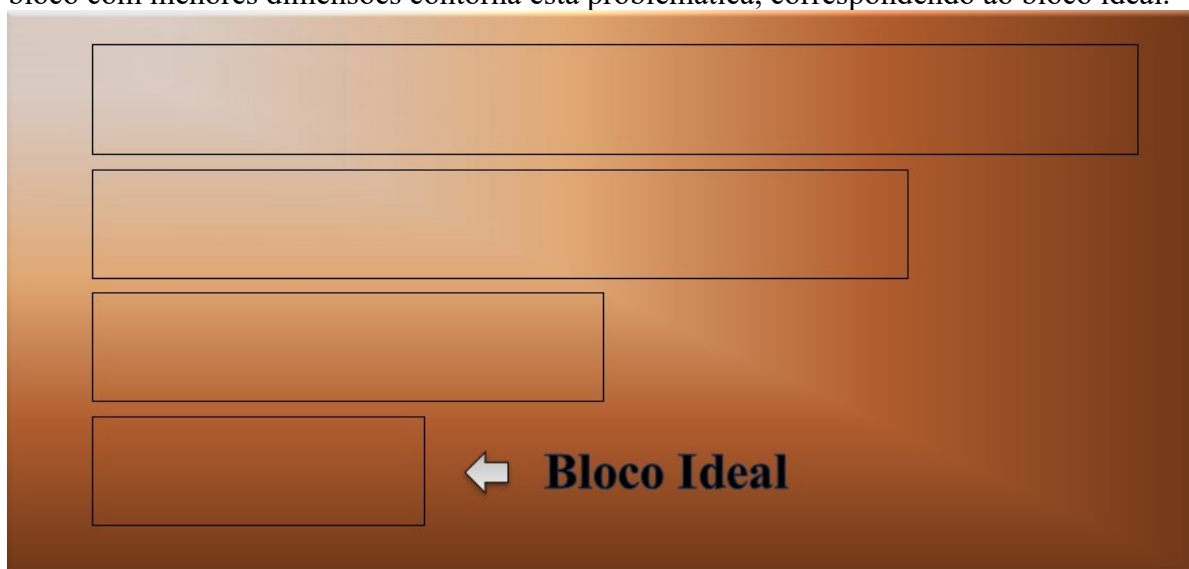
Por essas premissas, este delineamento é o mais usado na experimentação agrícola. O seu uso intenso se justifica quando o material experimentado é heterógeno, devido as características intrínsecas ao próprio solo, como declividade, fertilidade, umidade, etc. Caso



o bloco possua grandes dimensões, a possibilidade de que ocorra homogeneidade dentro pode ser reduzida, levando ao aumento do erro experimental (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Na Figura 1 pode-se verificar um exemplo da ocorrência da falta de homogeneidade, ilustrada aqui pelas diferentes tonalidades que correspondem aos níveis de fertilidade do solo. Observe que quanto maior for bloco, maior será a falta de homogeneidade com relação a fertilidade, promovendo influências nos tratamentos a serem alocados dentro dele.

**Figura 1** – Representação de blocos. A coloração representa a fertilidade do solo, percebe-se o seu gradiente conforme o aumento das dimensões do bloco, destacando que o uso de um bloco com menores dimensões contorna esta problemática, correspondendo ao bloco ideal.



Fonte: Autor, 2017.

#### 2.2.1.1 Estrutura da análise de variância (ANOVA) do Delineamento em Blocos Casualizados

Conforme Pimentel-Gomes (2009) para a análise de variância o modelo tem que ser estipulado;

$$y_{ij} = \mu + t_i + b_j + e_{ij}$$

Em que:

$y_{ij}$  é a observação referente ao tratamento  $i$  no bloco  $j$ ;

$\mu$  é a média geral (ou constante comum a todas as observações);

$b_j$  é o efeito de bloco, com  $j = 1, 2, \dots, J$ ;

$t_i$  é o efeito de tratamento, com  $i = 1, 2, \dots, I$ ;

$e_{ij}$  é o erro experimental da parcela que recebeu o tratamento  $i$  no bloco  $j$  e está associado aos fatores não controlados. Como premissa os  $e_{ij}$  devem passar em testes de normalidade, homocedasticidade e independência.

As hipóteses avaliadas pela ANOVA do DBC para os tratamentos são:

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_i = \mu;$

$H_1$ : Nem todas as médias são iguais.

Regra de decisão para o bloco:

Como  $F_{\text{calc}} > F_{\text{tabelado}}$ , desta forma, rejeita-se  $\mu_0$ , ou seja, pelo menos dois tratamentos têm efeitos diferentes, pelo teste F, ao nível de 5% de significância.

Para os blocos as hipóteses são:

$H_0$ : os blocos têm os mesmos efeitos, ou seja,  $\mu_{B1} = \mu_{B2} = \dots = \mu_{Bj} = \mu.$

$H_1$ : Nem todas as médias são iguais.

Regra de decisão para o bloco:

Como  $F_{\text{calc}} < F_{\text{tabelado}}$ , então, aceita-se  $H_0$ , pelo teste F, ou seja, os blocos têm os mesmos efeitos. Neste caso, um delineamento inteiramente casualizado poderia ter sido realizado.

Nota-se que se a hipótese nula for verdadeira, todos os tratamentos são iguais, pois possuem a mesma  $\mu$ . Já a variância é medida por meio das somas dos quadrados, sendo definidas, onde o tratamento é representado pelo  $i$  e o bloco pelo  $j$ :

$$SQ \text{ Total} = \sum x^2 - \frac{G^2}{ij}$$

$$SQ \text{ Tratamentos} = SQT = \frac{\sum i^2}{j} - \frac{G^2}{ij}$$

$$SQ \text{ Blocos} = SQB = \frac{\sum j^2}{i} - \frac{G^2}{ij}$$

$$SQ \text{ Erro Experimental} = SQe = SQtotal - SQblocos - SQtratamentos$$

Onde:

$x$  = valores observados em cada parcela;

$G = \sum x;$

Após definição da medida da variabilidade total dos dados, conhecida por soma de quadrados médios, a Tabela 1 já pode ser preenchida;

**Tabela 1** – ANOVA de um DBC preenchida com as respectivas fontes de variações.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F
Blocos	$b - 1$	SQB	QMB	$\frac{QMB}{QME}$
Tratamentos	$v - 1$	SQT	QMT	$\frac{QMT}{QME}$
Erro	$(v - 1)(b - 1)$	SQE	QME	
Total	$vb - 1$	SQTotal		

Graus de liberdade (GL), soma de quadrado (SQ), quadrado médio (QM) e o teste F, sendo  $v$  o número de tratamentos,  $b$  o número de blocos, as somas de quadrados dos Blocos (SQB), Tratamentos (SQT), dos resíduos (SQE), de total (SQT), os respectivos quadrados médios dos blocos (QMB), tratamentos (QMT), e do resíduo (QME).

Seguido do cálculo das somas dos quadrados, calculam-se os quadrados médios QMT, para tratamentos e QME para o erro experimental, como também o QMB dividindo as somas dos quadrados pelos respectivos graus de liberdade. Posteriormente, o teste da hipótese de nulidade tem que ser calculado para o tratamento e para o bloco:

$$F \text{ do tratamento} = \frac{QMT}{QME}$$

$$F \text{ do bloco} = \frac{QMB}{QME}$$

O F calculado é a etapa final, pois este é comparado com o da distribuição F para  $(I - 1)$  e  $(I - 1)(J - 1)$  graus de liberdade, respectivamente, de tratamentos e do erro experimental. Se o valor crítico da distribuição F for maior que o F estimado, para o nível 5% de significância, a diferença é dita significativa ( $p < 0,05$ ). Isso indicará que existe diferenças significativas entre os tratamentos. Caso contrário, não haverá diferença significativa entre os tratamentos.

### 2.2.2 Delineamento em Blocos Incompletos Balanceados

Quando certas limitações restringem o tamanho do bloco, quando o número de tratamentos é elevado, ou ainda, quando o material a ser estudado não é heterogêneo, é viável a utilização dos blocos incompletos balanceados - BIB, ou seja, que não incluam todos os tratamentos dentro do bloco (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Uma estrutura em blocos incompletos ocorre à medida que se visualiza que o número de tratamentos excede o número de unidades experimentais no bloco. Diante disso, determinados tratamentos não ocorrem dentro de alguns blocos. Este modelo de delineamento surgiu em 1936, com Yates, com o objetivo de avaliar um grande número de tratamentos (YATES, citado por PIMENTEL-GOMES, 2009)

Encontram-se três tipos distintos de BIB, segundo Cochran e Cox (1957). No Tipo I, o experimento pode ser agrupado em repetições. Já relativo ao Tipo II, os blocos podem ser dispostos em grupos de repetições. Diferentes dos dois primeiros, o Tipo III, os blocos não podem ser agrupados em repetições (COCHRAN, COX, 1957 citado por PIMENTEL-GOMES, 2009).

A análise do BIB é mais complexa do que os experimentos em DIC, DBC e DQL. Porém, essa maior complexidade e a maior perda dos graus de liberdade do resíduo, é compensada normalmente pela redução do quadrado médio residual (erro experimental), obtendo de uma forma geral experimentos mais precisos. Ainda sobre a análise deste delineamento, ela pode ser distinta em duas, a análise intrablocos e a análise interblocos (PIMENTEL-GOMES, 2009).

A análise intrablocos pode ser empregada para quaisquer experimentos em blocos incompletos balanceados, se baseando em métodos estatísticos exatos, trabalhando com efeitos ajustados de tratamentos e também com médias ajustadas. Já referente ao método de análise com recuperação de informação interblocos, possibilita um melhor aproveitamento dos dados, porém usa métodos estatísticos apenas aproximados. Neste caso, os contrastes (comparações entre médias) utilizados oferecem informações dos tratamentos, combinados com o efeito aleatório do bloco, para obtenção de estimativas mais precisas. Para que isso aconteça, o resíduo teve ter ao menos 20 graus de liberdade (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Um parâmetro novo, que também é de interesse em se ter o conhecimento, é a eficiência, a qual é atribuída em porcentagem dependente do  $\lambda$  ( $\lambda$ ). Quanto maior o

valor de  $\lambda$ , maior a porcentagem, logo mais eficiente é a disposição dos blocos, ou seja, mais próximo de um DBC se torna o delineamento. Para que isso aconteça o número de blocos aumenta e em alguns casos, de maiores eficiências, existe a possibilidade de se ultrapassar a disponibilidade de espaço a campo (PIMENTEL-GOMES, 2009).

$$E = \frac{\lambda v}{k r} = \%$$

$$\lambda = \frac{r(k-1)}{v-1}$$

Onde:

$k$  = número de tratamentos por unidade experimental;

$r$  = número de repetições;

$v$  = número de tratamentos.

A eficiência  $E$  apresenta valores entre 0% e 100%, indicando o quanto a estrutura a ser construída é compatível com um DBC tradicional. Já o  $\lambda$  determina a quantidade de vezes que um tratamento aparece com outro no experimento. Tradicionalmente no DBC, o número de vezes que isso ocorre é igual ao número de blocos. Porém, no BIB esse número é diferente, sendo muitas vezes menor que o número de blocos a serem utilizados (PIMENTEL-GOMES, 2009).

#### 2.2.2.1 Estrutura da análise de variância – ANOVA do Delineamento em Blocos Incompletos

As estruturas apresentadas aqui são parecidas com as do DBC e as hipóteses e o modelo matemático admitido para um experimento tipo III interbloco, difere-se pela presença de efeito aleatório no bloco, já o modelo matemático intrabloco é o mesmo. Existe ainda a diferença da maior perda de graus de liberdade no resíduo que é compensada pela redução do QME, de modo não raro a obtenção de experimentos mais precisos (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Tanto a estrutura da análise com recuperação de dados da informação interblocos e a interbloco diferem-se da análise de um DBC, porém ela segue a mesma lógica, possuindo

graus de liberdade - GL, soma de quadrados - SQ, quadrado médio - QM. Porém estes valores são calculados pelas estimativas das médias ajustadas e pelos contrastes, desta forma, é gerado a soma de quadrados ajustados e não ajustados dependendo da ocasião que é representada na Tabela 2 (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Silva (2009) descreveu ambas as análises. Para isso o mesmo considerou um total de  $N$  observações dispostas em  $b$  blocos, divididos em  $k_1, k_2, \dots, k_b$  unidades experimentais, de acordo com os  $v$  tratamentos, que ocorrem  $r_1, r_2, \dots, r_v$  vezes, temos que:

$$\sum_{i=1}^v r_i = \sum_{j=1}^b k_j = N$$

Portando, o número total de observações, é igual ao valor da disposição das unidades experimentais dos blocos e ao número total da distribuição dos tratamentos.

A soma de quadrados para o total ou a variação dos dados, é designada por  $SQt$ , expressa-se por meio da soma de quadrados corrigida:

$$SQt = \sum_{i=1}^v \sum_{j=1}^b (y_{ij})^2 - \frac{y_{oo}^2}{N}$$

Onde:

$N = b(\text{blocos}) \cdot k(\text{parcelas}) = \text{número total de observações.}$

$y_{oo} = \text{representa a soma total das observações.}$

A variabilidade da soma de quadrados total é expressa através:

$$SQt = SQ_{tratamentos_{ajustados}} + SQ_{blocos} + SQ_{erro}$$

O ajuste é feito com o objetivo de separar os efeitos dos tratamentos e dos blocos, pois cada tratamento representa um conjunto distinto de  $r$  blocos. Por sua vez a soma de quadrados dos blocos será dada por:

$$SQb = \sum_{i=1}^v \frac{y_{oj}^2}{k} - \frac{y_{oo}^2}{N}$$

Em que:

$y_{0j}$  = o total do j-ésimo bloco e onde a soma de quadrados dos blocos tem  $b-1$  graus de liberdade.

Para a soma de quadrados para tratamentos ajustados, tem-se:

$$SQ_{trat}(aj) = \frac{k \sum_{j=1}^v (Q_i)^2}{\lambda v}$$

$$Q_i = y_{io} - \frac{1}{k} \sum_{j=1}^b n_{ij} \cdot y_{aj} , \quad i = 1, 2, \dots, v$$

Tal que:

$Q_i$  = o ajuste global para o i-ésimo tratamento;

$n_{ij}$  = são os valores observados;

$y_{io}$  = representa a soma total das observações para o i-ésimo tratamento.

Esta expressão é caracteriza a média global dos blocos que contenham o i-ésimo tratamento. Dito isso a soma total dos tratamentos ajustados será nula:

$$\sum_{i=1}^v Q_i = 0$$

Por último tem-se a soma de quadrados para o erro (SQe):

$$SQe = SQ_t - SQ_{trat}(aj) - SQ_b$$

Sendo:

$$QM_{trat}(aj) = \frac{SQ_{trat}(aj)}{v - 1}$$

$$QMe = \frac{SQe}{N - v - b + 1}$$

$$\frac{QM_{trat}(aj)}{QMe}$$

Até este ponto teríamos uma análise intrabloco, porém em certos casos deseja-se ainda aprofundar o estudo sobre os efeitos dos blocos, ao passo que teremos uma análise interbloco. A primeira mudança é a partição da soma de quadrados total:

$$SQ_t = SQ_e - SQ_{trat} - SQ_b(aj)$$

Visualiza-se que agora o bloco passa a ser ajustado e a soma de quadrados não ajustada. Considera-se então:

$$Q'_j = y_{aj} - \frac{1}{r} \sum_{i=1}^v n_{ij} \cdot y_{aj} \quad , \quad j = 1, 2, \dots, b$$

E a soma total dos blocos ajustados, como o caso dos tratamentos ajustados agora é nula. Assim:

$$SQ_{trat}(aj) = \frac{\sum_{j=1}^b (Q'_j)^2}{\lambda b}$$

Ao passo que devido a não ortogonalidade (produto gerado é nulo) de tratamentos e blocos temos descrito por Oliveira (1994 citado por SILVA, 2009):

$$SQ_t \neq SQ_{trat}(aj) + SQ_b(aj) + SQ_e$$

A soma de quadrados para tratamentos ignorando os blocos, resume-se pela fórmula da soma de quadrados sem ajustamento:

$$SQ_{trat} = \sum_{i=1}^v \frac{y_{io}^2}{r} - \frac{y_{oo}^2}{N}$$

Resumindo todo este processo podemos formar a Tabela 2 (SILVA, 2009):



**Tabela 2** – ANOVA de um BIB completa para análises interbloco e intrabloco preenchida com suas respectivas fontes de variações.

Causas da Variação	GL	SM	QM
Tratamento (ajustados)	$v - 1$	$\frac{k \sum_{j=1}^b (Q_i)^2}{\lambda v}$	$\frac{SQtrat(aj)}{v - 1}$
Tratamentos (não ajustado)	$v - 1$	$\frac{\sum y_{io}^2}{r} - \frac{y_{oo}^2}{N}$	$\frac{SQtrat}{v - 1}$
Blocos (não ajustados)	$b - 1$	$\frac{\sum_{j=1}^b y_{aj}^2}{r} - \frac{y_{oo}^2}{N}$	$\frac{SQb}{b - 1}$
Blocos (ajustados)	$b - 1$	$k \sum_{i=1}^v \frac{Q_i^2}{\lambda v} + \sum_{j=1}^b \frac{y_{aj}^2}{k} + \sum_{i=1}^v \frac{y_{io}^2}{r}$	$\frac{SQbloco(aj)}{b - 1}$
Erro	$N - v - b + 1$	$SQe = SQt - SQtrat(aj) - SQb$	$\frac{SQe}{N - v - b + 1}$
Total	$N - 1$	$\sum_{i=1}^v \sum_{j=1}^b (y_{ij})^2 - \frac{y_{oo}^2}{N}$	—

Graus de liberdade (GL), soma de quadrado (SQ), quadrado médio (QM), sendo  $v$  o número de tratamentos,  $b$  o número de blocos,  $k$  número de parcelas,  $Q_i$  o ajuste global para o  $i$ -ésimo tratamento,  $\lambda$  lambda,  $y_{io}$  representa a soma total das observações para o  $i$ -ésimo tratamento,  $y_{oo}$  a soma total das observações,  $y_{oj}$  o total do  $j$ -ésimo bloco e onde a soma de quadrados dos blocos tem  $b-1$  graus de liberdade,  $N$  número total de observações.

O processo conclusivo da hipótese do tratamento e do bloco é semelhante ao DBC utilizando respectivamente:

$$F_0 \frac{QMtrat(aj)}{QMe}$$

$$F_1 \frac{QMbloco(aj)}{QMe}$$

### 2.3 CARACTERIZAÇÃO DO MILHO E SUA IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

O milho (*Zea mays*) pertence à família *Poaceae*, é uma planta originada da planta Teosinto, sendo uma espécie cultivada atualmente em todas as partes do mundo, abrangendo climas tropicais, subtropicais e temperados. Na classificação botânica, o milho pertence à ordem *Gramineae*, família *Poaceae*, tribo *Maydeae*, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L (BARROS; GALADO, 2014).

O milho é uma cultura anual, cultivada em duas épocas do ano, sendo elas conhecidas como safra e safrinha. Por se tratar de uma planta  $C_4$ <sup>1</sup> anual de grande precocidade, é cultivada em todo o Brasil (OLIVEIRA, NASCENTE, KLUTHCOUSKI, 2013; BERGAMASCHI, MATZENAUER, 2014). Globalmente, pode-se ver que o Brasil é o terceiro maior produtor (9,2%), perdendo para os Estados Unidos (34,6%) e para a China (20,8%) (CONAB, 2017).

A produtividade média do Brasil na safra de 2016/17 foi de 5.554 kg/ha e a área para o mesmo ano é de 17.591,7 mil hectares (CONAB, 2017). Os principais estados produtores de milho na safra 2016/17 foram: Mato Grosso (26,4%), Paraná (16,6%), Mato Grosso do Sul (10,2%), Goiás (8,6%), Minas Gerais (7,2%) e Rio Grande do Sul (4,6%), que sozinhos correspondem por mais da metade da produção brasileira (CONAB, 2017).

Já para a perspectiva da nova safra 2017/18 tem-se uma diminuição na produtividade para o valor estimado de 4.890 kg/ha, ou seja, um valor de 11,9% menor que a safra passada. Na mesma sequência se visualiza uma perspectiva de diminuição também estimada da área para 16.636,8 mil hectares, correspondendo a um valor de 6,9% menor que a safra passada (CONAB, 2018).

Relativo à produção nacional do estado de Santa Catarina, este teve uma produção de 2.987.545 toneladas para a safra 2016/17, produzidos em uma área de 383.907 hectares. As quatro principais microrregiões produtoras são Joaçaba, Chapecó, São Miguel do Oeste e Canoinhas, respectivamente. Entretanto, a microrregião com uma estimativa de melhor rendimento médio por hectare é Curitibanos, sendo aproximadamente de 10 toneladas por hectare (EPAGRI, 2017).

---

<sup>1</sup>  $C_4$ : Recebem este nome devido ao fato do ácido oxalacético possuir 4 moléculas de carbono, formado após o processo de fixação de carbono, além disso, diferenciam-se pela presença da PEP-carboxilase (TAIZ, ZEIGER, 2013).

## 2.4 BACTERIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E FIXADORAS DE NITROGÊNIO

O solo naturalmente é constituído por milhares de organismos vivos, tanto que é considerado um organismo vivo. Entre os organismos que se relevam benéficos, podemos citar as bactérias promotoras de crescimento em plantas – BPCPs e/ou as bactérias que fixam biologicamente o nitrogênio – FBN . Essas bactérias gram-negativas espiraladas, possuem diâmetro de 1  $\mu\text{m}$  e o comprimento de 2,1 a 3,8  $\mu\text{m}$ , sob a forma de bastonetes uniflageladas e com movimentos vibratórios. Formam uma simbiose interespecífica harmônica simbiótica, onde ambos são beneficiados (ECKERT et al., 2001; VINHAL-FREITAS, RODRIGUES, 2010).

A simbiose por bactérias associativa obrigatória, ou seja, que não possuem vida livre no solo mais conhecida é da cultura da Soja (*Glycine max*). Esta é caracterizada pela formação de nódulos na própria raiz da cultura. Tanto na soja, como no milho, a planta fornece carboidratos que são usados como fonte de energia pelas bactérias, já a planta como benefício disso, recebe das bactérias formas mais prontamente assimiláveis do nitrogênio como o nitrato, advindo do nitrogênio atmosférico  $\text{N}_2$  (FBN). Com uma alta eficácia, este processo pode suprir em até 100% da necessidade da planta em nitrogênio, não necessitando doses exógenas de nitrogênio, pois a mesma é inibitória da nodulação (HUNGRIA et al., 2001).

O milho (*Zea mays*) diferentemente da soja não produz nódulos, pelo fato de que a espécie de bactéria é assimbiótica, não associativa, que possui vida livre no solo, colonizando a rizosfera da planta. Outro aspecto diferente é que o maior benefício da bactéria para a planta é a produção de hormônios reguladores do crescimento, entre eles, auxina, gibberilina e citocinina e etileno (CAVALCANTI, 2016; MUMBACH, et al., 2017). Comparativamente, a eficiência da FBN é menor, girando em torno de somente em 20 a 50%, mas mesmo assim, pode reduzir a necessidade de um grande investimento com fertilizantes químicos, especialmente aqueles a base de nitrogênio aplicados em cobertura (VINHAL-FREITAS).

Os mecanismo de ação direta são inúmeros, como um maior crescimento radicular, seguido de uma maior absorção de água e nutrientes, com até a capacidade de solubilizar o fosfato, aumentando os teores de clorofila e condutância estomática, além de alterações na atividade fotossintética de plantas que ligado a outros fatores fisiológicos, faz com que ocorra um aumento nesta atividade, consequentemente tornando a planta mais produtiva e resistente às intempéries ambientais. Lembrando, também é relatado na literatura a não obtenção de

nenhum ganho pela inoculação (VINHAL-FREITAS; RODRIGUES, 2010; MUMBACH, et al., 2017). Já os mecanismos de ação indireta incluem a supressão de organismos deletérios do ambiente pela competição ou antibiose, antagonismos a fitopatógenos (SOMERS et al., 2005), dentre outros.

Comparativamente, nota-se uma diferença enorme entre o benéfico gerado no milho com a soja, demandando inúmeras pesquisas voltadas para o desenvolvimento e criação de novos métodos, técnicas e procedimentos mais adequados e convenientes, gerando benefícios tão gritando como o caso da soja. Os gêneros de bactérias mais comuns estudadas no milho são o *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus ssp* (CAVALCANTI, 2016), somente para o gênero *Azospirillum* quatorze espécies já foram identificadas (MOREIRA, 2014).

### **2.5.1 Inoculação de sementes e o gênero *Azospirillum* associadas à família Poaceae**

O milho é conhecido por ser colonizado por uma grande diversidade de bactérias diazotróficas, isto simultaneamente (LODEWYCKX et al., 2002). Tais bactérias, quando benéficas e associadas às plantas, podem promover dois benefícios que resultam em um maior crescimento vegetal. Isto é decorrente tanto pela FBN, como pela produção de fitormônios (MOREIRA et al., 2010). Este aumento no crescimento vegetal é o que se busca primordialmente na inoculação, que gerará uma planta mais produtiva.

O processo de “colocar” a bactéria em contato com a planta ou semente é chamando de inoculação. Para o milho, a inoculação padrão é a base de *Azospirillum*, ou seja, bactérias diazotróficas. A técnica surgiu a partir da década de 1970 na EMBRAPA, quando a Dra. Johanna Döbereiner (1924-2000) descobriu que bactérias de vida livre do gênero *Azospirillum* possuíam a capacidade de fixação biológica do nitrogênio atmosférico, quando em associados com gramíneas, com ganhos em rendimento ou até a possibilidade da redução das dosagens de N aplicadas, sem haver perdas em produtividade (HUNGRIA, 2011).

No início, acreditava-se que os benefícios obtidos eram essencialmente derivados da fixação biológica do nitrogênio atmosférico como o caso da Soja. No entanto, estudos posteriores demonstraram que os efeitos positivos proporcionados por estes microrganismos eram, principalmente, derivados de alterações morfológicas e fisiológicas nas raízes das plantas inoculadas pela produção de hormônios de crescimento (KAPPES, 2013).

Existem na literatura vários trabalhos que confirmam que microrganismos do gênero *Azospirillum* produzem fitormônios e respectivamente estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas. Tien et al. (1979), por exemplo, verificaram que os componentes responsáveis pelo estímulo do crescimento de raízes liberados por *A. brasilense* eram o ácido indol-acético - AIA, giberilinas, citocininas, etileno (RADWAN, 2004; CAVALCANTI, 2016).

A auxina e componentes indólicos produzidos pelo *Azospirillum* mostrou um potencial em promover o crescimento das plantas em diferentes condições edafoclimáticas. Outros hormônios também são produzidos como citocininas e giberelinas do grupo A1 e A3. Ao menos três vias da biossíntese da produção do AIA em *Azospirillum* foram descritas. A via índole-3-acetamida -IAM e a índole-3-piruvato -I<sub>pv</sub>A que são dependentes do triptofano, já a outra é independente do triptofano (RADWAN, 2004).

Lembrando que a inoculação é uma técnica ambientalmente responsável e tecnicamente correta e socialmente justa, que é capaz de tornar o sistema como um todo mais eficiente, produtivo e menos custoso. Entretanto, por se tratar de um organismo vivo, algumas questões tem que serem levadas em conta, como a viabilidade que deve ser alta no momento da inoculação, para isso deve-se proceder algumas recomendações de que ela venha a ocorrer nas horas mais frescas do dia, e o processo deve fornecer uma cama homogeneia e fina sobre a semente secas à sombra, fazendo-se a semeadura o mais rápido possível antes de 24 horas (MENDES, 2010).

### **2.5.2 Outros gêneros de bactérias diazotróficas usados na inoculação com potencial a ser explorado**

Espécies diazotróficas com um potencial ainda a ser explorado são as *Pseudomonas fluorescens* e o *Bacillus ssp*, ambas são consideradas BPCPs. Lazaretti e Bettiol (1997 citado por ARAUJO, 2008) descrevem que o *Bacillus ssp*, entre as outras características das rizobactérias, promovem ainda um benefício na germinação de sementes e emergências de plântulas. Os resultados dependem da espécie inoculada, na soja a campo constatou-se a produção de antibióticos durante o desenvolvimento da planta com ainda altos incrementos na nodulação. Um dos antibióticos já conhecidos é a iturina em *B. subtilis*, ora já o

*Pseudomonas fluorescens* como indutor de resistência observado no pepino contra o vírus do mosaico.

Pelo fato de induzir a resistência na maioria dos trabalhos com o uso de *B. subtilis* está relacionado com o próprio uso no controle biológico de fitopatógenos. Um grande potencial descrito por Araújo et al. (2005) é o uso contra nematóides, pois estes possuem a capacidade de reduzir a infecção produzida por este organismo. Araújo ainda descreve a produção de tanto AIA, como AIB, em resposta a exsudatos da raiz de soja quando inoculadas com *Bacillus subtilis* e de que o *Pseudomonas fluorescens* como inoculado em milho produz AIA).

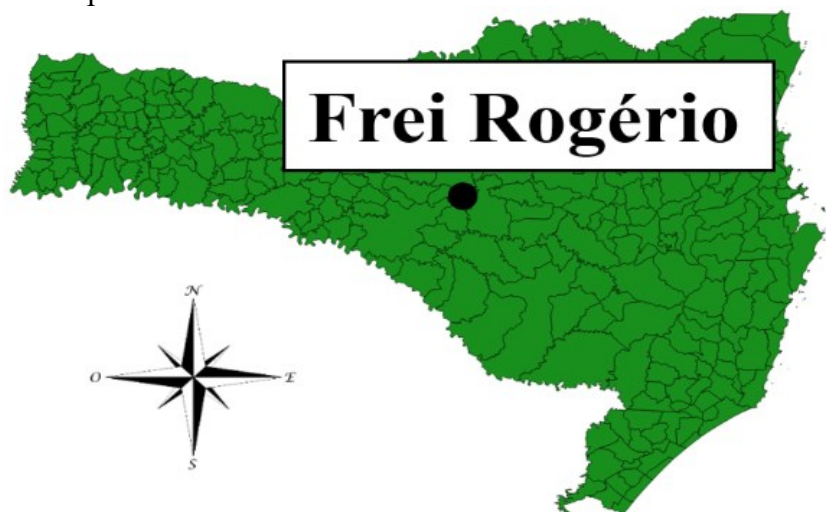
O potencial de maior solubilização de fósforo, conforme Guerreiro (2008), é o das rizobacterias *Pseudomonas*, *Bacillus*. *In vitro*, evidenciou-se que o potencial de solubilização está relacionado diretamente à produção de sideróforos, enzimas líticas e fitohormônios. Esta capacidade está associada ao desprendimento de ácidos orgânicos que são frequentemente combinados com outros metabólitos, os quais geram um ganho na nutrição de planta, principalmente em solos pobres deste elemento.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO A CAMPO

O cultivo foi conduzido conforme as recomendações do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA de acordo com a Instrução Normativa N° 13 de 25/03/2011 utilizando 10 tratamentos. As atividades foram desenvolvidas em conjunto com a colaboração da Total Biotecnologia, que forneceu os inoculantes utilizados no experimento e materiais laboratoriais.

**Figura 2** – Imagem do Município de Frei Rogério na mesorregião serrana de Santa Catarina, o ponto destaca o Município.



Fonte: Autor, 2018, utilizando os recursos do QGIS (Sistema Geográfico de Informações).

A condução do experimento aconteceu durante os meses de novembro de 2017 a abril de 2018, na localidade de Santo Correntes, localizada no município de Frei Rogério – SC (Figura 2), ao lado de Curitibanos – SC na mesorregião serrana de Santa Catarina. O plantio manual aconteceu no dia 12 de novembro de 2017 e sua colheita dia 11 de abril de 2018 (Figura 3). O clima desta região, conforme a classificação de Koppen é Cfb, (mesotérmico úmido com inverno chuvoso e verão ameno).

A temperatura média anual em Frei Rogério é 15.0 °C, tendo uma pluviosidade média anual de aproximadamente 1700 mm, com 812 metros de altitude em relação ao nível do mar. Suas coordenadas geográficas são 27°11'57" de latitude sul e 50°43'44" de longitude oeste. Na tabela 3 são descritos os teores pertinentes relativos à análise de solo do local de

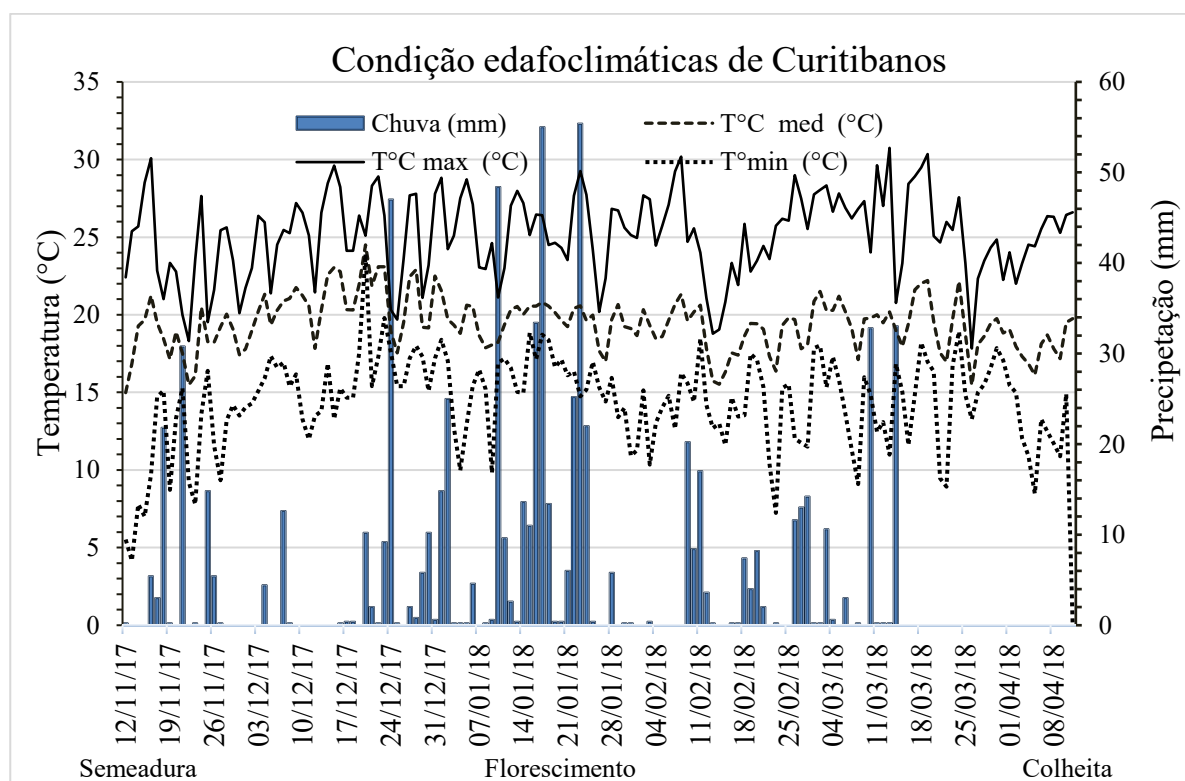
implantação do experimento que foram corrigidas conforme o dono da área almejava ser o mais ideal.

**Tabela 3** - Análise de solo do local de experimentação na profundidade de 0-20 cm.

Profundidade 0-20 (cm)							
pH - H <sub>2</sub> O	Índice SMP	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC efetiva	CTC pH 7,0
-----Cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> -----							
4,9	5,4	4,05	1,09	2,59	8,7	7,88	13,99
Saturação (%)	M.O.	C.O.	Argila	P Mehlich		Na	K
Alumínio	Bases	-----%-----			-----mg/dm <sup>3</sup> -----		
32,87	37,78	4,8	2,78	39	5,5	1	57

Fonte: Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Laboratório de Análise de Solos – LAS, 2017.

**Figura 3** – Gráfico gerado a partir dos dados de diários de precipitação, temperatura máxima, média e mínima de Curitiba – SC, 2017-2018, representando ainda os respectivos estádios fenológicos do florescimento e sua data.



Fonte: INMET - Instituto Nacional de Meteorologia com a Estação meteorológica no Aeroporto de Curitiba – SC, 2018 e do Campus Sede da Universidade Federal de Santa Catarina da Estação do campus Curitiba – SC, 2018.



A preparação da área se deu inicialmente com o controle das plantas daninhas, fazendo-se o uso de um herbicida inibidor de EPSPS (Glifosato) na dose recomendada 2 l/ha com efetividade no controle de Aveia preta (*Avena Sativa*).

O fornecido de N-P-K se deu na base, na quantidade de 350 kg/ha da formulação 9-33-12, estipulada pelo próprio dono e responsável da área (Tabela 3). Esta correção resultou em uma adubação de base de aproximadamente 32 kg de N/ha. Sobre a adubação de cobertura, todas as parcelas receberam 75% de N (300 g/parcela) ou seja, 115 kg de Super N/ha ou 52 kg de N/ha conforme a recomendação da cultura em cobertura, distribuída uniformemente sobre a área total da parcela, com exceção das parcelas em que o T1 e o T2 encontram-se.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos Incompletos Balanceados - BIB, utilizando 10 tratamentos, contando com um número de 6 repetições, gerando um total de 15 blocos. Cada bloco acomodou 4 parcelas com as seguintes dimensões: 10 metros de comprimento e 2,5 de largura (Figura 4). Entre cada parcela foi adotado um espaçamento de 1 metro, já entre cada bloco, o espaçamento também foi o mesmo.

### 3.2 ESCOLHA DO CROQUI E O DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Escolheu-se o croqui com 83,33% (Tabela 4) de eficiência frente ao Delineamento em Blocos Casualizados - DBC para a implementação do experimento a campo e através de sorteio dos tratamentos (casualização) estabeleceu-se o croqui do experimento (Tabela 4).

**Tabela 4** - Disposição do croqui experimental escolhido com 83,33% de Eficiência com sua devida casualização dos tratamentos para implementação a campo.

Disposição				
Tratamento				Bloco
T9	T1	T6	T5	B1
T9	T7	T10	T2	B2
T3	T6	T9	T8	B3
T6	T10	T2	T3	B4
T5	T7	T8	T10	B5
T7	T6	T1	T2	B6
T8	T6	T4	T1	B7
T8	T9	T5	T2	B8
T9	T3	T7	T4	B9
T6	T8	T4	T10	B10
T10	T4	T9	T1	B11
T5	T6	T7	T4	B12
T3	T7	T8	T1	B13
T3	T10	T5	T1	B14
T3	T5	T4	T2	B15

T1: Testemunha, sem inoculação e nem adubação nitrogenada; T2: 75 % da dose nitrogenada, sem inoculação; T3: *Azospirillum* (AZO) + *Bacillus licheniformis* (BL); T4: 75% N + *Pseudomonas fluorescens* (PF); T5: 75% N + *Bacillus subtilis* (BS); T6: 75% N + *Bacillus pumilus* (BP); T7: 75% N + *Bacillus licheniformis* (BL); T8: 75% N + *Bacillus amyloliquefaciens* (BA); T9: 75% N + AZO (pulverizado); T10: 75% N + AZO + BS.

O croqui foi disposto na área experimental, nos gerando a Figura 4, onde cada quadrante representa uma parcela.

**Figura 3** – Croqui experimental com 83,33% de eficiência implantado a campo sem os espaçamentos entre parcelas, ilustrando as parcelas. Frei Rogério – SC, 2017.



Fonte: Autor, 2018.

### 3.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO A CAMPO E TRATAMENTOS

O plantio do milho aconteceu no dia 12 de novembro de 2017 de forma manual com o uso de luvas. Para facilitar esse processo, o solo foi riscado de forma mecanizando, ou seja, utilizando a semeadeira sem adubo ou semente nos dando um espaçamento de 50 cm entre as linhas e o espaçamento entre sementes com o uso de uma régua foi de 30 cm entre sementes, sendo a profundidade de semeadura manual de 3 cm, distribuindo 3,6 sementes por metros lineares.

O milho utilizado foi o híbrido da Syngenta, nome comercial Feroz VIP- SYN8A98 Viptera, com o tratamento de sementes industrial.

O experimento compreendeu com 10 tratamentos, onde:

**T1:** Testemunha, sem adição de N em cobertura e sem inoculação;

**T2:** 75% da dose de N em cobertura em V3, sem adição de inoculantes;

**T3:** 75% da dose de N em cobertura em V3, com adição do produto líquido AZO (*Azospirillum*), mais produto líquido BL (*Bacillus licheniformis*), ambos aplicados na dosagem de 100ml/60.000 sementes, ou seja, 5,16 ml/kg de sementes. Com o uso de uma

pipeta foi retirado primeiramente 5,16 ml do produto AZO, pois se tratava de 1 kg de semente (Figura 5A). Foi pipetada essa solução, em uma sacola plástica aonde possuía 1 kg de milho para sua devida homogeneização (Figura 5D). Em seguida, o outro produto BL foi adicionado seguindo os mesmos passos. Ao final, foi colocado o 1 kg de milho em outro saco plástico de papelão escuro, este foi deixado à sombra, até o momento do seu plantio.

**T4:** 75% de N em cobertura em V3, com adição do produto líquido PF (*Pseudomonas fluorescens*), mais protetor RZ, ambos aplicados na dosagem de 100ml/60.000 sementes, ou seja, 5,16 ml/kg de sementes. O procedimento foi o mesmo do T3, diferindo-se onde o protetor foi colocado primeiramente em contato com a semente, já os tratamentos em sequência seguem a mesma lógica do T3, mudando o produto utilizado.

**T5:** 75% de N em cobertura em V3, com adição do produto BS (*Bacillus subtilis*) aplicado na dosagem de 100ml/60.000 sementes, ou seja, 5,16 ml/kg de sementes.

**T6:** 75% de N em cobertura em V3, com adição do produto BP (*Bacillus pumilus*) aplicado na dosagem de 100ml/60.000 sementes, ou seja, 5,16 ml/kg de sementes.

**T7:** 75% de N em cobertura em V3, com adição do produto BL (*Bacillus licheniformis*) aplicado na dosagem de 100ml/60.000 sementes, ou seja, 5,16 ml/kg de sementes.

**T8:** 75% de N em cobertura em V3, com adição do produto BA (*Bacillus amyloliquefaciens*) aplicado na dosagem de 100ml/60.000 sementes, ou seja, 5,16 ml/kg de sementes.

**T9:** 75% de N em cobertura em V3, mais *Azospirillum* na dose de 300ml/ha, diluído em um volume de calda de 150 l/ha, ou seja, 382 ml de calda em pulverizada sobre as parcelas (Figura 5C) em jato dirigido sobre a linha de plantio em V3 com o uso de um pulverizador manual (Figura 5B).

**T10:** 75% de N em cobertura em V3, com adição do produto AZO (*Azospirillum*), mais produto BS (*Bacillus subtilis*), ambos aplicados na dosagem de 100ml/60.000 sementes, ou seja, 5,16 ml/kg de sementes.

Os tratamentos, após a inoculação, foram deixados à sombra, até o momento do plantio, com a finalidade de não alterar a viabilidade das bactérias.



**Figura 4** – Fotografias de Inoculação de sementes. Processo de pipetagem no momento da inoculação das sementes e o inoculante em mãos (A), processo de pulverização em V3 do tratamento T9 (B), calda do tratamento sendo diluída (C), inoculação de sementes pós homogeneização (D).



Fonte: Autor, 2017.

### 3.4 COLETA E AVALIAÇÃO DOS DADOS

#### 3.4.1 Coleta do diâmetro em V3

A coleta diâmetro (cm) de colmo do milho no estágio inicial de desenvolvimento, sendo este V3, se deu quando a planta tinha 3 folhas totalmente expandidas. Os dados foram coletados de forma aleatória, de uma amostra de 6 plantas por parcela. Usando o paquímetro, mediu-se sempre o maior diâmetro do colmo padronizando as medições do solo, como referência a superfície do solo. Sabendo que o colmo do milho não é totalmente esférico, o ajuste do ângulo deveria ser feito ao fim de se coletar sempre o maior diâmetro.

#### 3.4.2 Coleta de dados em R1

Os parâmetros coletados no estágio de desenvolvimento R1, período ao qual correspondo ao florescimento (aparecimento da inflorescência feminina), que coincidiu com a data 14 de janeiro de 2018 foram: diâmetro (cm), altura total da planta (cm), altura de inserção da primeira espiga (cm), massa da parte aérea seca (g) e nitrogênio total da parte aérea (mg/kg). Foram coletadas uma amostra de 5 plantas por parcela, de forma aleatória, sendo cortadas acima das raízes de suporte.

Estes dados foram coletados com as plantas já dispostas sobre a mesa de trabalho, ou seja, não a campo. Primeiramente, coletou-se o diâmetro de colmo conforme descrito. Após com o uso de uma trena, da base da planta até o seu fuste mediu-se a estatura da planta. Na sequência mediu-se a estatura do ponto da inserção da primeira espiga, considerando o ponto de inserção da folha..

A amostra para a análise de N foi coletada a partir da folha bandeira da planta, sendo esta a maior folha emitida. No terço central da folha oposta à primeira espiga foi retirado uma amostra de aproximadamente 5 cm<sup>2</sup>. A amostra foi levada em seguida para a estufa até sua secagem completa e usada posteriormente para a determinação do teor de nitrogênio foliar. Seguiu-se o método de digestão nítrico-perclórica, titulado segundo a metodologia de Tedesco et al. (1995), pelo método de Kjeldahl com modificações.

A parte área da planta foi triturada individualmente. Passando a planta pelo triturador de jardim, pesando separadamente o seu peso úmido total (g). Em seguida, foi retirada uma amostra de normalmente 150 a 300 gramas para a mensuração da umidade. Posteriormente,

esta amostra foi levada para a estufa durante 4 dias, a uma temperatura de 60°C, e oportunamente determinando o seu peso seco. O valor de água foi calculado e utilizado para o cálculo do teor da umidade, consequentemente gerando o valor de matéria da parte aérea seca (g).

### 3.4.3 Coleta de dados em R6

Quando o milho entrou em maturação fisiológica foram coletadas todas as espigas das plantas centrais da parcela, de uma área útil total de aproximadamente 15 m<sup>2</sup>. As espigas foram levadas para se fazer a debulha. Em seguida todos os grãos, originados dessa parcela, foram pesados e formaram uma amostra total de grãos úmidos (g). Desta forma, era retirado uma amostra úmida pesada em torno de 150 a 300 g. Essa amostra foi levada para sua secagem na estufa durante 4 dias, a uma temperatura de 50°C, em sequência foi pesado o seu peso seco.

O valor de água foi utilizado para a determinação da produtividade corrigida a 13% de humidade. A mesma amostra reservada para a estimativa de umidade foi usada para a determinação do teor de nitrogênio do grão, seguindo a mesma metodologia usada para a determinação do teor de nitrogênio da parte área.

## 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos à análise de variância interbloco ao nível de 10% de significância. As médias dos tratamentos quando significativas passaram a serem comparadas pelo teste Tukey, também ao nível de 10% de significância. Todas essas análises foram realizadas utilizando o Software R (R CODE TEAM, 2015) com o uso do script (ANEXO A) e os pacotes *agricolae* (MENDIBURU, 2014), *nlme*, (PINHEIRO, BATES, DEBROY, 2018). *Readxl* (WICKHAM, BRYAN, 2018).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ESCOLHA DO DELINEAMENTO E SUA COMPARAÇÃO DO DELINEAMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

Com o uso do pacote *agricolae* (MENDIBURU, 2014) foram calculadas todas as possibilidades de croqui de 8 a 15 tratamentos, gerando 119 disposições. Já com a quantidade de tratamentos estipulada de 10 tratamentos, gerou-se 18 possíveis disposições (Tabela 5) de croqui, na qual só as que possuem uma porcentagem de eficiência elevada são apresentadas. As formulas para os cálculos de Eficiência (E) e do lambda ( $\lambda$ ) são:

Eficiência:

$$E = \frac{\lambda v}{k r} \quad E = \frac{2 \cdot 10}{4 \cdot 6} \quad E = 83,33\%$$

Lambda:

$$\lambda = \frac{r(k-1)}{v-1} \quad \lambda = \frac{6(4-1)}{10-1} \quad \lambda = 2$$

Utilizou-se o pacote *agricolae*, de acordo com método de Mendiburu (2014) para calcular as possibilidades de croqui, número de bloco e tratamentos por bloco com base nos três critérios de seleção: 1) Eficiência; 2) Número de tratamentos dentro do bloco; 3) Número de blocos. Condizendo com estes critérios escolheu-se o croqui com 83,33% (Tabela 4) de eficiência com 15 blocos, 6 repetições e 4 tratamentos por parcela, totalizando 60 blocos.

**Tabela 5** - Cálculo das possibilidades de elaboração do croqui para a implementação do experimento na cultura do milho a campo com 10 tratamentos.

Tratamentos (v)	Lambda ( $\lambda$ )	Blocos	Tratamentos por parcela (k)	Repetição (r)	Eficiência (E)
10	1	45	2	9	55,56%
10	2	30	3	9	74,07%
10	2	15	4	6	83,33%
10	4	18	5	9	88,89%
10	5	15	6	9	92,59%
10	14	30	7	21	95,59%

Fonte: Autor, 2017.



Em um DBC, todos os tratamentos compõem o bloco, desse modo, teríamos 10 tratamentos dentro do bloco, porém com o BIB foram alocados apenas 4 tratamentos dentro do bloco (Tabela 4). Em outras palavras, houve uma redução de 60% do tamanho do bloco, controlando uma possível heterogeneidade ambiental. Zanão Junio, et al. (2010) ao avaliar a variabilidade espacial de diferentes atributos químicos em um Latossolo, concluiu que existe uma variabilidade não somente extensão, mas até mesmo em profundidade, visto que para o mesmo ponto em profundidades diferentes de amostragem este demonstrou ser variável.

#### 4.2 DIÂMETRO DE COLMO EM V3 E R1

Na Tabela 6 são apresentados os valores das médias ajustadas correspondentes às avaliações do experimento em relação ao diâmetro de colmo no estágio vegetativo V3 (3 folhas totalmente expandidas) e R1 (florescimento e embonecamento). Ainda na mesma tabela os valores para as médias ajustadas dos tratamentos na análises dos dados em V3 do diâmetro é de 14.82mm demonstrando não serem significativos. Ainda sobre esta tabela nota-se que também não houve diferença significativa para os dados de diâmetro em R1, os quais obtiveram uma média das médias ajustada para o diâmetro de 2.07 m.

O motivo para medir o diâmetro de colmo no estágio vegetativo, quando o milho apresentar 3 folhas verdadeiras, é para saber qual é a verdadeiro benefício isolado da inoculação sem a interação da adubação nitrogenada a lanço, pois ambos possuem a capacidade de aumentar os parâmetros produtivos da planta de milho. A inoculação pela interação das bactérias e produção de hormônios, e a adubação por deixar prontamente o elemento disponível para a planta utilizar no seu metabolismo (OKUMURA, 2011).

O diâmetro de colmo é influenciado diretamente pela aplicação de nitrogênio em cobertura. Está é uma característica morfológica mais relacionada com o acamamento de planta e por ser importante para obtenção de altas produtividade. Uma vez que, o diâmetro possui uma correlação positiva com a capacidade da planta em armazenar fotoassimilados. Estes, por sua vez, contribuem para altas produtividades suprimindo necessidade nutricional requerida no estágio de florescimento das plantas, desenvolvimento das espigas e enchimento dos grãos (KAPPES et al., 2013, REPKE et al., 2013).

No milho, estudos demonstrados por Radwan et al. (2004) avaliando a produção de compostos fitohormônios, por estirpes de *Azospirillum* e *Herbaspirillum*, obtiveram

resultados interessantes, na qual ambas as estirpes tiveram o pico de produção destes compostos 24 horas após a inoculação. Estes autores destacam também que, a estirpes do gênero *Azospirillum* produziram de três a sete vezes mais compostos quando comparadas com as estirpes do gênero *Herbaspirillum*. Desta forma, podemos notar a diferenciação também temporal das culturas, justificando que o momento ideal de avaliação do diâmetro é pós a formação completa da interação e sua devida atividade funcional.

**Tabela 6** - Tabela de valores das médias ajustadas do diâmetro de colmo do milho no estágio V3 (mm) e no estágio R1 (cm) submetidas aos tratamentos. Curitibaanos, SC, safra 2017/2018.

Tratamento	Diâmetro em V3 (cm)	Diâmetro em R1 (cm)
1	1,47 <sup>ns</sup>	2,09 <sup>ns</sup>
2	1,39	2,09
3	1,57	2,11
4	1,49	2,05
5	1,53	2,10
6	1,50	2,06
7	1,42	2,03
8	1,44	2,00
9	1,42	2,06
10	1,54	2,10
Média	14,82	2,07
CV %	5,77	8,98

<sup>ns</sup>Não significativo ao nível de 10% de probabilidade. Valores seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,10$ ). CV: coeficiente de variação. T1: Testemunha, sem inoculação e nem adubação nitrogenada; T2: 75 % da dose nitrogenada, sem inoculação; T3: *Azospirillum* (AZO) + *Bacillus licheniformis* (BL); T4: 75% N + *Pseudomonas fluorescens* (PF); T5: 75% N + *Bacillus subtilis* (BS); T6: 75% N + *Bacillus pumilus* (BP); T7: 75% N + *Bacillus licheniformis* (BL); T8: 75% N + *Bacillus amyloliquefaciens* (BA); T9: 75% N + AZO (pulverizado); T10: 75% N + AZO + BS.

A inoculação de soja é altamente benéfica na redução de custos, pois a produtividade, somente com a inoculação, pode ser tão elevada quando a maior dose de N recomendada para a situação, pois a fixação biológica possui a capacidade de suprir em até 100% da dose de N (SILVA et al., 2011). Esta inibição também é confirmada em alguns trabalhos com o milho. O trabalho de Roesch et al. (2006), que descreve que o efeito da inoculação de milho em geral

é anulada nos tratamentos que receberam 100% de N na forma mineral de ureia, corroborando com outros dados de Hungria et al. (2011), no qual os tratamentos que receberam 100% de N, na forma mineral de ureia, tiveram o efeito da inoculação com *Azospirillum* nula. Já Araújo et al. (2013) afirmam que é verificado uma maior contribuição da inoculação associada à adubação nitrogenada com a redução da dose total recomendada.

Conforme o trabalho de Nakon et. al (2014), este verificou que o diâmetro de colmo, antecedendo a colheita das plantas de milho, não foram significativos, contrapondo o fato de que os tratamento com inoculação aumentaram o diâmetro de colmo e de que os maiores diâmetros foram dos tratamentos sem a inoculação do produto a base de *Azospirillum*, tanto para as duas formas de adubação, com ureia convencional não revestida, como também para a revestida, a inoculação não aumentou o valor de diâmetro de colmo de milho.

Trabalhos que avaliaram o efeito da inoculação de sementes de milho com a bactéria *Azospirillum brasilense*, como o de Mumbach et al. (2017), não obtiveram resposta no diâmetro de colmo na fase reprodutiva, sendo não significativos, resultado que corrobora com o como observado neste trabalho. Já para Dartora et al. (2013) apresentou resultados diferentes sobre o diâmetro de colmo na fase vegetativa e reprodutiva, onde a inoculação com a combinação das estirpes Ab-V5 (*Azospirillum brasiliense*) e SmR1 (*Herbaspirillum seropedicae*) proporcionaram maior diâmetro do colmo em relação à testemunha, não inoculada.

O incremento averiguado por Dartora et al. (2013) equivaleu-se de 15% a mais em relação à testemunha, que associou este benefício a própria inoculação, pela promoção de crescimento, contrapondo os resultados deste trabalho e também o de Mumbach et al. (2017). Kaneko (2013) observou que somente as parcelas inoculadas tiveram respostas lineares no diâmetro de colmo quando se realizou a adubação de nitrogenada com doses de N em cobertura.

#### 4.3 ESTATURA TOTAL E DE INSERÇÃO DA PRIMEIRA ESPIGA

Na Tabela 7 são apresentados os valores médios correspondentes às avaliações de estatura e ponto de inserção da primeira espiga, quando a planta estava em R1. O valor médio para a estatura total é de 2,21 e para a estatura de inserção da primeira espiga é de 1,25 m. Em ambos os dados, corroboram com os valores obtido por Lana et al. (2012), que vai ao

desencontro aos resultados de Braccini et al. (2012), na qual a inoculação proporcionou aumento na estatura de planta com o uso do AZO.

**Tabela 7** - Tabela de valores das médias ajustadas de estatura total (m) e estatura de inserção da primeira espiga (m) de plantas de milho submetidas aos tratamentos. Curitiba, SC, safra 2017/2018.

Tratamento	Estatura total (m)	Estatura 1º espiga (m)
1	2,18 <sup>ns</sup>	1,24 <sup>ns</sup>
2	2,19	1,30
3	2,35	1,33
4	2,11	1,17
5	2,31	1,31
6	2,19	1,25
7	2,12	1,22
8	2,24	1,20
9	2,22	1,24
10	2,21	1,27
Média	2,21	1,25
CV %	7,9	12,6

<sup>ns</sup>Não significativo ao nível de 10% de probabilidade. Valores seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,10$ ). CV: coeficiente de variação. T1: Testemunha, sem inoculação e nem adubação nitrogenada; T2: 75 % da dose nitrogenada, sem inoculação; T3: *Azospirillum* (AZO) + *Bacillus licheniformis* (BL); T4: 75% N + *Pseudomonas fluorescens* (PF); T5: 75% N + *Bacillus subtilis* (BS); T6: 75% N + *Bacillus pumilus* (BP); T7: 75% N + *Bacillus licheniformis* (BL); T8: 75% N + *Bacillus amyloliquefaciens* (BA); T9: 75% N + AZO (pulverizado); T10: 75% N + AZO + BS.

Os resultados obtidos por Dartora et al. (2013), utilizando a inoculação com AZO resultou em plantas mais altas. Entretanto, diferentemente deste trabalho, os dados foram significativos. De maneira similar, Kaneko (2013) não constatou efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* para a estatura de planta em duas localidades tanto com milho “primeira safra” quanto com milho “segunda safra”, associando isto ao fator genético Lana et al. (2012) constatou a mesma associação.

Barassi et al. (2008) observaram plantas maiores e mais vigorosas ao inocularem as sementes com *A. brasilense*, porém todo o período de experimentação até o momento da coleta

tiveram precipitações adequadas, como também temperaturas adequadas (Figura 3), as plantas não sofreram nenhum stress, não constatando respostas esperadas de um vigor que poderiam diferenciar ainda mais as testemunhas dos tratamentos com inoculação.

Sobre a estatura de planta Portugal et al. (2012) verificam-se que o *Azospirillum brasilense* via foliar foi capaz de aumentar a estatura de inserção da primeira espiga em 7,3 cm, quando comparado a testemunha não adubada com nitrogênio e não inoculada. Isto é algo não visualizado neste experimento, no qual o tratamento 9, que refere-se ao produto AZO pulverizado, não apresentou dados significativos, que também foi reafirmado por Muller et al. (2012), que testou o *Azospirillum brasilense* inoculada na semente e no sulco de semeadura, constando a ausência de efeitos no parâmetro de estatura de planta.

Na mesorregião serrana em Ponte Alta – SC, Kleinschmitt (2018), relatou o uso do *A. brasilense* tanto para estatura total e estatura de inserção da primeira espiga. Os resultados foram estatisticamente iguais às suas testemunhas. Vários autores, além dos quais já foram citados, reafirmam até mesmo ausência de efeito significativo da inoculação de AZO na cultura do milho para as variáveis de estatura, como o caso de Dartora et al. (2013) e Lana et al. (2012).

Na soja, conforme Silva et al. (2011), a estatura de plantas não foi influenciada pelas doses de inoculante e nitrogênio (N) aplicadas no primeiro ano de cultivo, mas já no segundo ano, as doses de N influenciaram significativamente a estatura de plantas. Neste mesmo trabalho, no primeiro ano a estatura de inserção da primeira vagem, também não sofreu influência significativa das doses de inoculante e N aplicadas, havendo somente a influência significativa das doses de N apenas no segundo ano de cultivo.

O que já é confirmado para o milho é que a adubação nitrogenada, em cobertura, afeta diretamente a estatura de planta, tanto nas fases reprodutivas como vegetativas. Dartora et al. (2013) confirmou isso, constatando efeito significativo com a dosagem de N.

Um efeito linear das doses de N foi constatado por Repke et al. (2013), entretanto isto no estágio vegetativo (20 dias após a emergência). Posteriormente, aos 60 dias após a emergência verificou-se de que doses maiores de N não aumentavam a estatura de planta. Afirmando a estreita relação do suprimento de N com o crescimento vegetal do milho.

A maior estatura de planta nem sempre é benéfica, pois esta pode ainda aumentar a predisposição da planta em acamar ou quebrar, principalmente quando material genético já possui uma alta estatura e propensão para tal. Kappes et al. (2011) descreve a importância de

se ter uma planta de milho com um bom equilíbrio de estatura, pois a menor distância do nível do solo até o ponto de inserção da espiga confere maior resistência ao acamamento e ao quebramento.

Entretanto, na experimentação de Moreira (2014), o mesmo descreve que durante o período de estudo, não foi verificado plantas acamadas e o mesmo aconteceu neste experimento. Um dos fatores mais contribuem com a estatura é o próprio material. Conforme Taiz e Zeiger (2013), ao avaliar a estatura de planta em dois híbridos distintos, conotam que para ambos sua estatura foi menor quando inoculados com *A. brasilense*. Fato esse justificado pela a ação de giberelinas promovida pela inoculaçãonão teve efeito sobre o alongamento do caule, já que são consideradas plantas altas e não possuem isto como um fator limitante para o seu crescimento.

#### 4.4 NITROGÊNIO FOLIAR E MASSA DA PARTE AÉREA SECA

A tabela 8 retrata que a massa da parte aérea seca foi significativa ao nível de 10% de probabilidade e de que o tratamento 7 (75% N + *Bacillus licheniformis*) teve a menor média ajustada de 118,10 g. Já o tratamento 10 (75%N + *Azospirillum brasilens* + *Bacillus subtilis*) com a maior média ajustada de 160,69 g, se diferenciou do tratamento 7, recebendo letras diferente. Já os outros tratamentos que contemplam as mesmas letras foram estatisticamente iguais.

O uso de 75% de N e a coinoculação com *Azospirillum brasilens* + *Bacillus subtilis*, T10, resultou em valor significativo ( $p < 0,10$ ), em relação a MS da parte aérea (g), quando comparados aos demais tratamentos (Tabela 8). Este fator de estudo, em questão, condiz no uso de dois produtos simultaneamente na semente, sendo estatisticamente superior ao tratamento 7. Para Ribeiro et al. (2017), a coinoculação aumentou todos os parâmetros estudados referente às raízes de milho, sendo estes: comprimento da raiz, superfície total da raiz, área superficial das raízes finas e peso seco.

**Tabela 8** - Tabela de valores das médias ajustadas do nitrogênio foliar ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e massa da parte aérea seca de plantas de milho submetidas aos tratamentos. Curitiba, SC, safra 2017/2018.

Tratamento	Nitrogênio foliar ( $\text{g kg}^{-1}$ )	Massa da parte aérea seca (g)
1	34,29 <sup>ns</sup>	136,47 ab
2	28,91	142,56 ab
3	38,97	151,29 ab
4	23,78	131,72 ab
5	35,47	147,66 ab
6	34,57	134,21 ab
7	30,26	118,10 b
8	32,21	135,48 ab
9	28,38	130,05 ab
10	31,76	160,69 a
Média	31,86	138,76
CV %	23,42	14,80

<sup>ns</sup>Não significativo ao nível de 10% de probabilidade. Valores seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,10$ ). CV: coeficiente de variação. T1: Testemunha, sem inoculação e nem adubação nitrogenada; T2: 75 % da dose nitrogenada, sem inoculação; T3: *Azospirillum* (AZO) + *Bacillus licheniformis* (BL); T4: 75% N + *Pseudomonas fluorescens* (PF); T5: 75% N + *Bacillus subtilis* (BS); T6: 75% N + *Bacillus pumilus* (BP); T7: 75% N + *Bacillus licheniformis* (BL); T8: 75% N + *Bacillus amyloliquefaciens* (BA); T9: 75% N + AZO (pulverizado); T10: 75% N + AZO + BS.

Se estas plantas, quando coinoculadas, possuem esta capacidade de um alto benefício nas raízes, estas conseguem destinar uma maior nutrição a planta pela maior capacidade de absorção. Esse fato se justifica pelo aumento da área específica da raiz que entra em contato com o solo, podendo aumentar a nutrição da parte aérea resultando em uma maior massa da parte aérea seca. Como o caso em específico deste trabalho

O teor de N foliar é um parâmetro usado para detectar a quantidade de N absorvida pela planta. Percebe-se a não significância dos dados do teor de nitrogênio foliar, corroborando com Hungria et al. (2010). Este estudo avaliou solos com alta fertilidade na camada de 0-20 cm e não observou alterações significativas nos teores de macronutrientes nas folhas em função da inoculação com as bactérias. Malavolta (2006) quantificou o teor de N

foliar adequado entre 28 a 35 g kg<sup>-1</sup>, que são encontradas neste trabalho, até mesmo nas testemunhas.

A importância do teor de N segundo Meira et al. (2009) é de que quanto maior o teor maior crescimento, desenvolvimento, consequentemente maior índice de área foliar, mais interceptação luminosa que confere maior síntese de carboidratos pela fotossíntese. Assim, a planta aumenta sua eficácia em alocar carboidratos para o sistema radicular, se tornando mais eficiente em aproveitar o N disponível e outros nutrientes no solo, justificando o trabalho de Araújo que encontrou uma maior eficiência do uso de adubações de N na planta de milho quando inoculada.

Na literatura interações positivas foram encontradas com o uso da inoculação a base de *H. seropedicae*. Araújo et al. (2013) observou que a inoculação da estirpe Z-94 de *H. seropedicae* em relação ao controle inoculado e não adubado um aumento da ordem de 4% do teor de N foliar, aumentando ainda sua eficiência de utilização.

O mesmo autor fez a análise de outros elementos, constatando efeitos significativos para os teores de N, P, K e Zn nas folhas de milho sendo afetadas positivamente pela adubação e inoculação, tanto de *A. brasilense*, quanto de *H. seropedicae*. Creus et al. (2004) associou isso a própria promoção de substância promotoras de crescimento, aumentando o número de pelos radiculares, contribuindo para uma maior exploração e absorção de nutrientes, e para os níveis de N pode existir influência da fixação biológica de nitrogênio.

Estudos de Kluge (2016) e Zardo Filho (2011) relatam que a correlação do teor de nitrogênio no florescimento conforme doses crescentes de N configuram uma forma quadrática, já outros trabalhos verificam uma reta positiva (ARATANI et al., 2006). O teor de N foliar varia consideravelmente conforme o ciclo da planta, obtendo seu pico máximo no próprio florescimento até o início da formação dos grãos (OKUMURA et al., 2011)

Ressaltados não significados são encontrados por Kaneko (2013) para o teor de N foliar estão ligados ao fato de que o teor deste elemento é diminuído por ser drenado para as raízes pelo próprio benefício das bactérias serem promotoras de crescimento. Amado, Mielinczuk, Fernandes (2000), ressaltam a necessidade de incrementar o N no sistema de plantio direto em sucessão com gramíneas, que pode resultar em uma intensa imobilização de N pela própria flora de microrganismos presentes no solo modificando o teor de N foliar.

O trabalho de Mendonça et al. (2006) já resalta que o acúmulo de N na cultura é afetado diretamente pela variabilidade genotípica das plantas, quanto à sua capacidade de



extrair N do solo e não se deve à contribuição microbiana. Isto também é confirmado por Skonieski (2015), o qual estudou inoculação de híbridos com o uso de *A. brasilense* relatando diferenças entre o teor de N foliar conforme o genótipo estudado. Corroborando com isso, Fernandes et al. (2005) descreve que tanto para o N das folhas como do teor de N do grão dos híbridos possuem estatisticamente diferenças entre eles, evidenciando ainda mais o fator genótipo.

Conforme já descrito a massa da parte aérea seca (Tabela 8) foi significativa ao nível de 10% de probabilidade que também é significativa em outros trabalhos. Dartora et al. (2013) concluiu que o uso de inoculação combinada de *A. brasilense* e *H.* foi significativo. Dartora et al. (2013) concluiu que o uso de inoculação combinada de *A. brasilense* e *H. seropedicae* proporciona um incremento na matéria seca da parte aérea e de que doses de N aplicadas no solo também possuem essa capacidade.

O acúmulo de matéria seca em plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* ocorre para Moraes et al. (2015), ocorre principalmente na presença de elevadas doses de N, o que parece estar relacionado com a assimilação desse do N e o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas.

Na mesorregião serrana em Curitiba – SC Melo (2014) notou que o aumento na adubação nitrogenada configura maior crescimento de parte aérea, destacando a dose de 200 kg ha<sup>-1</sup> de N, quando associada à maior dose de *A. brasilense* (equivalente a 200 ml ha<sup>-1</sup>). Como o caso do ensaio de Moraes et al. (2015) e Reis et al. (2008), o acúmulo de massa do sistema radicular seco não foi afetado pelo inoculante, tampouco para Roberto et al. (2010) no acúmulo de massa seca da parte aérea.

O tratamento 10 (75%N + *Azospirillum brasilens* + *Bacillus subtilis*) foi o processo de coinoculação, que condiz no uso de dois produtos simultaneamente na semente. Este tratamento foi significativo para o estudo em questão, sendo estatisticamente superior ao tratamento 7 (75% N + *Bacillus licheniformis*). Para Ribeiro et al. (2017), a coinoculação aumentou todos os parâmetros estudados referente às raízes de milho, sendo estes; comprimento da raiz, superfície total da raiz, área superficial das raízes finas e peso seco.

#### 4.5 NITROGÊNIO, MASSA DE MIL GRÃOS E PRODUTIVIDADE

Todos os parâmetros da Tabela 9 são diretamente relacionados com o suprimento de N, pois este, conforme Below (2002), desempenha um papel importante como constituinte essencial dos aminoácidos, participando diretamente na biossíntese de proteínas e clorofilas. De acordo com Tabela 6, somente os dados de matéria seca da massa de mil grãos foram significativos ao nível de 10% de probabilidade. Os tratamentos que não possuem letras iguais e diferem entre si pelo teste Tukey, sendo estes o tratamento 1 (testemunha absoluta, sem inoculação e nem adubação nitrogenada) com o valor de 289,47g para o tratamento 5 de 333,48g. As médias ajustadas tiveram como valor final média entre os tratamentos de 316,30g.

**Tabela 9** - Tabela de valores das médias ajustadas do nitrogênio do grão ( $\text{g kg}^{-1}$ ), massa de mil grãos (g) e produtividade ( $\text{kg/ha}$ ) de plantas de milho submetidas aos tratamentos. Curitiba, SC, safra 2017/2018.

Tratamento	Nitrogênio do grão ( $\text{g kg}^{-1}$ )	Massa de mil grãos (g)	Produtividade ( $\text{kg há}^{-1}$ )
1	9,20 <sup>ns</sup>	289,47 b	9.466,512 <sup>ns</sup>
2	7,89	310,76 ab	10.875,04
3	9,32	318,12 ab	11.904,10
4	10,62	321,09 ab	11.297,29
5	11,43	333,48 a	12.343,56
6	11,80	325,01 ab	12.973,12
7	11,19	313,63 ab	11.192,33
8	11,07	305,03 ab	11.661,60
9	8,59	327,66 ab	11.870,92
10	10,62	318,77 ab	11.554,33
Média	10,17	316,30	11.513,88
CV %	29,60	6,37	17,26

<sup>ns</sup>Não significativo ao nível de 10% de probabilidade. Valores seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,10$ ). CV: coeficiente de variação. T1: Testemunha, sem inoculação e nem adubação nitrogenada; T2: 75 % da dose nitrogenada, sem inoculação; T3: *Azospirillum* (AZO) + *Bacillus licheniformis* (BL); T4: 75% N + *Pseudomonas fluorescens* (PF); T5: 75% N + *Bacillus subtilis* (BS); T6: 75% N + *Bacillus pumilus* (BP); T7: 75% N + *Bacillus licheniformis* (BL); T8: 75% N + *Bacillus amyloliquefaciens* (BA); T9: 75% N + AZO (pulverizado); T10: 75% N + AZO + BS.

Por proporção o valor do tratamento 5 foi 15,20% superior ao tratamento 1. Já referente a média foi de 5,9%, isto se deve ao fato de que o tratamento 5 refere-se à inoculação de *Bacillus subtilis* com adubação de 75% da dose recomendada de N. Já o T1 refere-se ao tratamento sem adubação e sem inoculação. Valores significativos são encontrados em outros trabalhos como o de Oliveira et al. (2012), que constatou a maior massa de 100 grãos de milho nas plantas adubadas com 250 kg ha<sup>-1</sup> na presença do inoculo, em relação à testemunha.

Percebe-se que a diferença do tratamento 5 para o 1 é a inoculação junto com a adubação. A bactéria presente no tratamento por ser uma BPCPs, infere-se que ela foi efetiva na melhoria no desenvolvimento de plantas. Esse desenvolvimento foi significativo, constatando a geração de mais assimilados direcionados para o grão quando comparado a testemunha absoluta. Evidenciando, a melhoria das respostas ao uso da adubação nitrogenada, o trabalho de Lima et al. (2011), com a inoculação do mesmo gênero na cultura do milho teve os mesmos resultados, reforçando este trabalho.

O benefício no aumento na massa de mil grão é confirmando em outros estudos, descrevendo novamente que este benefício se dá pela interação da inoculação mais adubação de cobertura (AMARAL FILHO et al., 2005) e também em alguns casos pelo benefício isolado da adubação com até o seu parcelamento (GOMES et al., 2007). Trabalhos com resultados divergentes também são encontrados como o caso do Basi (2013), averiguando a não interação do efeito da inoculação de *A. brasilense* na massa de mil grãos.

Araújo, Vitorino, Mercante (2014) concluíram que o teor de N do grão interage com o teor de N aplicado de forma exógena para a massa de mil grãos, inferindo de que com o uso da inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*, em um solo fértil não tem efeito. Isso averigua que em solos de média a baixa fertilidade, o potencial para que os microrganismos expressem seu grau máximo de benefício para a cultura do milho aumenta. Para Melo (2014), a inoculação de *A. brasilense* em combinação com o N em dose reduzida em 50% e na dose de 100% houve efeito no peso de mil grãos.

Resultados não significativos foram visualizados por Kappes et al. (2009) e Moreira (2014) avaliando a aplicação de doses de nitrogênio em relação a massa de mil grãos. Segundo Borrás e Otegui (2001), esse é o componente de produção menos afetado por variações nas práticas de manejo e adubação. Tal afirmação não é unânime pois Lana et al. (2009) verificaram aumento no peso de grãos e o atribuíram ao fornecimento de N em cobertura

O teor de N do grão (Tabela 9) não foi significativo possuindo uma média para os tratamentos de 10,17 g kg<sup>-1</sup>. Dotto et al. (2010), tanto para o teor de N nas plantas, tanto nas folhas e nos grãos, não foi influenciado significativamente pela inoculação com *H. seropedicae*. Contrapondo isso, Díaz-Zorita e Fernandes (2008) descrevem que para o N das folhas e do grão híbridos possuem estatisticamente diferenças entre os dados, ressaltando ainda mais o fator genético. Araújo (2013) constatou que outros nutrientes além do N, como K, Ca, e Mg aumentaram com a inoculação de *A. brasilense* e *H. seropedicae* sem adição de N, acrescida de uma melhor utilização da adubação.

Compilando estudos ao redor do mundo de um período de 20 anos com *Azospirillum spp.* Oko e Itzigsohn (1995 Citado por MÜLLER, 2013) demonstram que trabalhos relativos à produtividade apresentou em torno de 60 a 70% sucesso relativos à obtenção de diferenças significativas e o aumento de produtividade de 5 a 30% com a inoculação. Outra revisão de 273 experimentos na Argentina por Díaz-Zorito e Fernandez Canigia (2008), demonstrou que para 85% dos casos de inoculação de milho este tem um aumento na produção de 472 kg ha<sup>-1</sup>.

Trabalhos brasileiros possuem uma grande viabilidade em relação ao incremento médio da produtividade. Hungria (2010) chegou a um incremento de 24 a 30% na produtividade em relação a testemunha com ausência de inoculação. Para Neto et al. (2016) este incremento foi menor de 7% em relação à testemunha. Descordando com estas afirmações temos os dados referente a Tabela 6, sobre a Produtividade (kg ha<sup>-1</sup>), que não foram significativas. Corroborando Mascarello e Zanão Júnior (2015), analisaram o efeito da inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* e constataram que não houve efeito significativo dessa prática para nenhuma das variáveis avaliadas: produtividade (kg ha<sup>-1</sup>), massa de mil grãos (g) e teor de proteína nos grãos (dag kg<sup>-1</sup>).

O uso da bactéria pode proporcionar o aumento da produtividade devido a sua característica de promover o crescimento em plantas aumentando a quantidade de fitormônios. Esses fitormônios] auxiliam no crescimento radicular e no número de radículas, que como consequência torna a planta mais vigorosa em função da maior captação de água e nutrientes, diminuindo até mesmo o efeito do estresse hídrico em situações adversas pela exploração do maior volume de solo pelas raízes (CAVALLET et al., 2000; HUNGRIA et al., 2010). Breda, Alves e Reis (2016) concluíram que o maior benefício é destacado pela promoção do crescimento do que da fixação biológica de N.

Comparando os resultados deste trabalho com a produtividade média do Brasil na safra de 2016/2017, que foi de 5.554 kg há<sup>-1</sup>, constata-se um valor de 41,33% superior à média nacional. Em contrapartida, analisando os dados da EPAGRI (2017) sobre a produtividade média da microrregião de Curitiba, que é de 10 kg há<sup>-1</sup>, verifica-se que os resultados desse trabalho obtiveram uma produtividade similar.

Já a maior produtividade do tratamento 6 de 12.973,12 kg há<sup>-1</sup> é de 57,19% superior à média nacional do mesmo ano, e 22,92% superior à média da produtividade de Curitiba.

Levando em consideração dois fatores, o primeiro o não suprimento de toda a necessidade de N pela cultura, em que esta era ao total era de 200 kg de N/ha, com uma perspectiva de produção de 10 toneladas/ha com a cultura antecessora uma gramínea, só corrigidos ao total aproximadamente 84 kg de N/ha.

Fazendo uma analogia só com o suprimento de N, nossa perspectiva de produção cai para a metade de 5 toneladas/há. Entretanto, a produção média foi de aproximadamente de 11 toneladas/ha, inferindo uma propensão da inoculação em ter suprido o restante da necessidade de N, com a fixação biológica e com uma maior captação de nutrientes pelo maior desenvolvimento radicular.

O segundo fator é a influência da estiagem pós R1, sobre todos os tratamentos, fato esse isto é verificado na Figura 3. Após o dia 15 de março de 2018 não se constatou nenhum indício de precipitação, que coincidiu com um dos maiores momentos de fragilidade da cultura de milho. Isso ocorreu por inúmeras causas, como abscisão foliar, fechamento estomático, deposição de cera, e principalmente na redução do rendimento de grão quando ocorre na prefloração até o início de enchimento de grão. Após este stress não existe como recuperar a capacidade produtiva, pois esta já foi afetada e será um fator limitante para altas produtividade, deixando as plantas até mesmo mais propensas a outros fatores bióticos e abióticos (BERGAMASCHI, 2006).

Presenciando no trabalho, estes dois fatores o que é de se esperar é uma queda na safra abaixo do patamar produtivo, mas o que foi vivenciado não foi isso, se dando ao fato de que tratamentos de inoculação tendem a possuir uma capacidade de resistir a maiores stress induzindo a não quebra de safra.

O N para ser absorvido depende exclusivamente do fluxo de massa que é muito relacionado à presença de água no solo. Kaneko (2013), na presença de um forte veranico, dias após a adubação nitrogenadas verificou que as plantas conseguiram capturar mais N,

antes desse período de stress, obtiveram maior capacidade metabólica durante o período crítico. Assim, neste trabalho, na ausência de inoculação o stress diminuiu a produtividade, já nos tratamentos inoculados, estes induziram as plantas a uma maior resistência, acarretada pelo alto vigor estabelecido pela inoculação.

O trabalho de Basi (2013) presenciou condições parecidas com o deste trabalho (Figura 3) com uma estiagem no período reprodutivo. No estágio R4, em que ocorreu déficit hídrico, não foi constatado quebra total da safra e o autor descreve essa possibilidade a própria inoculação e de que ela influenciou os dados de massa de mil grãos e na produtividade.

De uma forma geral, como este trabalho, há também uma inconsistência de outros trabalhos que avaliam a inoculação de bactérias não serem significativas. Isso já é conhecido pelo fato de que a inoculação com *Azospirillum brasilense*, conforme Quadros (2009), depende da interação entre planta e bactérias, que pode mudar pelo próprio material genético, escolha da estirpe, condições edafoclimáticas, competição com microrganismos nativos, estado nutricional da planta e da bactéria, alterando significativamente todos os fatores produtivos da planta de milho.

O pH do solo em 4,9 também pôde ter influenciado a experimentação de forma negativa. O pH do solo é um dos fatores que influenciam no crescimento das bactérias fixadoras de N atmosférico, a maioria dessas bactérias são pouco tolerantes à acidez. Segundo Döbereiner e Pedrosa (1987 citado por BASI, 2013), a faixa de pH entre 6,0 e 7,8 seria o ideal as para o crescimento da *A. brasilense*. No entanto, a faixa para a realidade de solos brasileiros é bem limitante, pois tem-se de forma generalista solos que são normalmente ácidos, que por sua vez podem influenciar a viabilidade de inoculação em gramíneas.

Outro fator que pode ser observado na Figura 5 é a presença de plantas daninhas. No milho, o período crítico de prevenção à interferência conforme Kozlowski (2002) é do V2 até o V7, ou seja, neste período a planta de milho sofre inúmeros danos principalmente pela competição e como consequência pode ocorrer reduções na produtividade. Na Figura 4 percebe-se que as plantas estão em V3 e de que ainda existia plantas daninhas indicando a ocorrência de competição até a chegada das épocas mais quentes.

Elucidando os benefícios não só produtivos, mas como econômicos, Kaneko (2013) descreve que a inoculação de *Azospirillum* eleva a receita bruta em R\$103,50 e 69,26 para ambos locais de “primeira safra”, respectivamente Chapadão do Sul e Selvíria. Concluindo

que economicamente esta prática foi viável para o milho “primeira safra” e que de forma geral o custo de inoculação foi em média de 1 saca no valor de R\$25/ha.

## 5 CONCLUSÃO

O uso do BIB contornou a problemática encontrada na área experimental e a análise da variância interbloco foi precisa. Referente aos tratamentos, a inoculação com o uso do BS (T5) isolado e a coinoculação de AZO + BS (T10), influenciam positivamente os parâmetros produtivos de massa da parte aérea seca e da matéria seca de mil grãos, respectivamente. Já para o entendimento dos benefícios da inoculação é imprescindível que sejam realizados novos experimentos a campo avaliando os efeitos da inoculação com o objetivo de obter mais resultados desta tecnologia na cultura do milho, descrevendo as condições que afetam a eficiência da inoculação



## REFERÊNCIAS

- AMADO, T. J.; MIELNICZUK, J.; FERNANDES, S. B. V. Leguminosas e adubação mineral como fontes de nitrogênio para o milho em sistemas de preparo do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 1, p. 179-189, 2000.
- AMARAL FILHO, J.P.R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J. C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, n.3, p.467-473, 2005.
- ARAÚJO, E. O. et al. Absorção de Nitrogênio por Genótipos de Milho inoculados com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. In: XII Seminário Nacional Milho Safrinha. 12., 2013, EMBRAPA – Dourado, MS. **Estabilidade e produtividade: anais**. Brasília, DF: Embrapa; Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. P. 6. ref. 1-6.
- ARAÚJO, E. O.; VITORINO, A. C.; MERCANTE, F. M. Doses de nitrogênio e inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho em condições de solo fértil. **Revista UNAL**, Colombia, v.65, n.1, 2014.
- ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 456-462, 2008.
- ARAUJO, F. F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 21, p. 1639- 1645, 2005
- BARROS J. F. C.; GALADO, J. G. **A Cultura do Milho**. 2014, 52 f. Texto de apoio para as Unidades Curriculares de Sistemas e Tecnologias Agropecuários, Tecnologia do Solo e das Culturas, Noções Básicas de Agricultura e Fundamentos de Agricultura Geral - Universidade de Évora, Évora, 2014.
- BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual do Centro-Oeste, Unicentro – PR. Guarapuava, 2013.
- BELOW, F. E. **Fisiologia, nutrição e adubação nitrogenada do milho**. Informações Agrônômicas, n. 99, p. 7-12, 2002.
- BERGAMASCHI, H. et al. Déficit hídrico e produtividade na cultura do Milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.2, p.243-249, 2006.
- BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. **O milho e o clima**. **Economia em Dia**. Porto Alegre:EMATER/RS-Ascar, 2014, p. 84.
- BORRÁS, L.; OTEGUI, M. E. Maize kernel weight response to post-flowering source-sink ratio. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 6, p. 1816-1822, 2001.

BRACCINI, L.A.; DAN, L.G.M.; PICCININ, G.G.; ALBRECHT, L.P.; BARBOSA, M.C.; ORTIZ, A.H.T. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associate with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 58-64, 2012.

BREDA, F. A. F.; ALVES, G. C.; REIS, V. M. Produtividade de milho na presença de doses de N e de inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.51, n.1, p.45-52, 2016.

CAPRIO, C. H. **Interação de variedades de milho sob inoculação com *Azospirillum brasilense* em diferentes épocas de semeadura**. 2017. 56 f. Dissertação (Mestre em Agronomia), Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, 2017.

CAVALCANTI, M. I. P. **Seleção de bactérias promotoras de crescimento em Milho cultivado no semiárido obtidas por diferentes estratégias de isolamento**. 2016, 111 f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Agrárias), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C.S.; HELMICH, J.J.; HELMICH, P.R.; OST, C.F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, Brasília, v. 4, n. 4, jun. 2017 - Safra 2016/17, Nono Levantamento.

CORRÊA, J. G. S., **Estatística Experimental: Planejamento de Experimentos**. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. Water relations and yield in *Azospirillum* inoculated wheat exposed to drought in the field. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 82, n. 2, p. 273-281, Feb. 2004.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasiliense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013.

DEPEC – Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos, **Milho**, jun. 2017, p. 54.

DÍAZ-ZORITA, M.; FERNANDEZ CANIGIA, M.V. Análisis de la producción de cereales inoculada con *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum* spp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. P.155-166.

DOTTO, A. P. et al. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Pernambuco, v. 5, n.3, 2010.

ECKERT, B. et al. *Azospirillum doebereineriae* a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 17-26, 2001.

EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. **Boletim Agropecuário**, Florianópolis, n.45, p.1-85, 16 de fev. 2017.

GOMES, R.F.; SILVA, A.G.; ASSIS, R.L.; PIRES, F.R. Efeitos de doses e época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agronômicos da cultura do milho sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p. 931-938, 2007.

GUERREIRO, R. T **Seleção de *Bacillus spp* promotores de crescimento de milho**. 2008. 59 f. Dissertação (Mestre em Agronomia), Universidade do Oeste Paulista – Presidente Prudente, Presidente Prudente, 2008.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina.Embrapa-CNPSo, 2011. 36 p. (Embrapa-CNPSo, Boletim técnico, 325).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283), 2010.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v.331, n.1-2, p.413-425, 2011.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. **Estação: Curitiba-A860**, altitude: 978 metros, boletim 2017/2018. Disponível em: <<http://agriculturaconservacionista.ufsc.br/agrometeorologia/estacao-aeroporto-curitibanos-inmet/>>. Acesso em: 16 de set. de 2018.

KANEKO, F. H. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*, fontes e doses de Nitrogênio na Cultura do Milho em duas épocas de semeadura**. 2013. 105 f. Dissertação (Doutor em Agronomia), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2013

KAPPES, C.; ANDRADE, J. A. C.; ARF, O.; OLIVEIRA, A. C.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P. Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais de plantas. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 2, p. 334-343, 2011.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V., Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Revista UEL**, Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 2, p. 527-538, mar/abril. 2013.

KLEINSCHMITT, E. **Desenvolvimento e produtividade da cultura do milho (*Zea mays*) em resposta à inoculação de *Azospirillum brasilense* e ao uso de fertilizantes bioindutores**. 2018. 50 f. TCC (Graduação em Agronomia), Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Curitiba, Curitiba, 2018.

KLUGE, F. T. R. **Efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* associado à reguladores Vegetais em Milho, utilizando diferentes Doses de Nitrogênio**. 2016. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual do Centro-Oeste, Unicentro – PR, Guarapuava, 2016

LANA, M. do C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n.3, p. 399-405, 2012.

LODEWYCKX, C.; VANGRONVELD, J.; PORTEOUS, F.; MOORE, E.R.B.; TAGHAVI, S.; MEZGEAY, M.; LEITE, D. Endophytic bacteria and potential applications. **Critical Review in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 21, n. 6, p. 583-606, 2002.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Protocolos Oficiais para Avaliação da Viabilidade e Eficiência Agronômica de Cepas Produtos e Tecnologias relacionada às Bactérias, Associativas**, Instrução Normativa N° 13 de 25/03/2011, p. 5.

MASCARELLO, G. ZANÃO, L. A. J. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. **Revista Cultivando o Saber**. Paraná, p.46-55 2015. Edição Especial.

MEIRA, F. A. et al. Fontes e épocas de aplicação do nitrogênio na cultura do milho irrigado. **Semana Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 275-284, 2009.

MELO, H. F. **Adubação Nitrogenada e Inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* na Cultura do Milho**. 2014. 36 f. Trabalho de conclusão de Curso (Engenheiro Agrônomo), Universidade Federal de Santa Catarina Campus Curitibanos, Curitibanos, 2014.

MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B.; CUNHA, M. H. **20 Perguntas e respostas sobre a fixação biológica de nitrogênio**. Documentos 281, Embrapa. Planaltina, DF. 2010.

MENDIBURU, F. **Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research**. R package version 1.2-0, 2014.

MENDONÇA, M. M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Variabilidade genotípica de milho para acumulação de nitrogênio e contribuição da fixação biológica de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.11, p.1681-1685, 2006.

MORAIS, T. P. et al. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n.6, p. 589-596, 2015.

MOREIRA, F. M. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v.1, n.2, p.74-99, 2010.

MÜLLER, T. M. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* associado a níveis crescentes de Adubação nitrogenada e o uso de Bioestimulante Vegetal na cultura do Milho**. 2013, 98 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual do Centro-Oeste, Unicentro – PR, Guarapuava, 2013.

MUMBACH, G. L.; KOTOWSKI, I. E.; SCHENEIDER, J. A. et al. Resposta da inoculação com *Azospirillum Brasilense* nas culturas de Trigo e de Milho Safrinha. **Revista Scientia Agraria**, Curitiba, v. 48, n. 2, abr/jun. 2017.

OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. C.; ZACCHEO, P. V. C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v.4, n.2, 2011.

OKUMURA, R. S.; MARIANO, D.C.; ZACCHEO, P. V. C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 4, n. 2, p. 226–244, 2011.

OLIVEIRA, M. A. et al. Desempenho agrônômico do milho sob adubação mineral e inoculação das sementes com rizobactérias. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v.16, n.10, p.1040–1046, 2012.

OLIVEIRA, P. et al. Crescimento e produtividade de milho em função da cultura antecessora. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 3, jul./set. 2013.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 15 ed., v.15. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451 p.

PINHEIRO, J. et al. **nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models\_**. R package version 3.1-137, R Core Team, 2018.

PORTUGAL, J. R. et al. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* Via Foliar Associada à Doses de Nitrogênio em Cobertura na Cultura do Milho**. XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO - Águas de Lindóia - 26 a 30 de agosto de 2012.

QGIS Development Team (YEAR). **QGIS Sistema Geográficos de Informações**. Fundação Geoespacial de Fonte Aberta. Disponível em: <<http://qgis.osgeo.org>>. Acesso em: 16 de set. de 2018.

QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum spp.* em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

R CORE TEAM (2015). **R: Uma linguagem e ambiente para computação estatística**. R Fundação para Computação Estatística,

RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M., Efeito da Inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília**, v. 39, n. 10, p. 987-994, out. 2004.

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA A. C. **Experimentação em Genética e melhoramento de plantas**, 2 ed. Lavras – MG: UFLA, 2005.

REIS, F. B. J. et al. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de Milho sob diferentes regimes de Nitrogênio. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.32, p. 1139-1146, 2008.

REPKE, R. A. et al. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de Nitrogênio no Desenvolvimento de plantas de Milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, n.3, p. 214-226, 2013.

RIBEIRO, V. P., et al. Co-inoculação com *Bacillus* e *Azospirillum* e promoção de crescimento de raízes de milho. In: IV SIMPÓSIO DE MICROBIOLOGIA DA UFMG, 093., Belo Horizonte, **Resumos**, Belo Horizonte: Metabolismo Microbiano: Saúde, Ambiente e Biotecnologia, 2017, P.1.

ROBERTO, V. M. O.; DIEGO, C. S.; LOBATO, P.N. Resposta da cultura do milho à aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In: **28º Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, 2010, Goiânia. Anais, Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010, P.2429-2434.

ROESCH, L. F. W.; OLIVARES, F. L.; PASSAGLIA, L. P. M. et al. Characterization of diazotrophic bacteria associated with maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogen-supply. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Dordrecht, v. 22, n. 9, p. 967-974, 2006.

SANTOS, P. G.; JULIATTI, F. C.; BUIATTI, A. L. et al. Avaliação do desempenho agrônômico de híbridos de milho em Uberlândia, MG. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 597-602, 2002.

SILVA, A. F., et al. Doses de inoculante e nitrogênio na semeadura da soja em área de primeiro cultivo. **Biosci. J.** v. 27, n. 3, p. 404-412, 2011

SILVA, P. C. S. L. C. A. **Modelos de planos em blocos incompletos: revisão e perspectivas**. 2009. 121 f. Dissertação (Mestre em Estatística e Optimização), Universidade Nova Lisboa, Lisboa, 2009.

SKONIESKI, F. R. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* e doses de Nitrogênio em Milho para Produção de Silagem e Grãos**. 2015. 94 f. Tese de Doutorado (Doutor em Zootecnia), Universidade Federal de Santa Maria Centro de Ciência Rurais, Santa Maria, 2008

SOMERS, E.; PTACEK, D.; GYSEGOM, P. et al. *Azospirillum brasilense* produces the auxin-like phenylacetic acid by using the key enzyme for indole-3-acetic acid biosynthesis. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.4, p. 1803–1810, 2005.

SOUZA, A. M.; ETHUR, A. B. M.; LOPES, L. F. D. et al. **Introdução a Projetos de Experimentos**. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, Caderno Didático, set. 2002

TADESCO, M.L.; GIANELLO, C.; BISSIANI, C.A. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. Ed. Porto Alegre, Departamento de Solos da Universidade do Rio Grande do Sul. 1995. 174 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre:Artemed, 2013. 954p.

TREVISOL, A. M.; COSME, K. F. S. G. **Análise de Experimentos em blocos incompletos**. 2013. 69 f. Relatório (Bacharel em Estatística) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

UFSC – Estação Meteorológica sede UFSC. **Estação: Davis, Curitibaanos**, Altitude: 1097 metros, boletim 2017/2018. Disponível em: <<http://agriculturaconservacionista.ufsc.br/agrometeorologia/estacao-ufsccuritibaanos/>>. Acesso em: 16 de set. de 2018.

Vienna, Austria, 2015. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acessado em: 16 de set. 2018.

VINHAL-FREITAS, I. C. RODRIGUES, M. B., Fixação biológica de nitrogênio na cultura do milho. Periódicos UFPB, **Agropecuária Técnica**, Paraíba, v. 31, n.2, p.143-154, 2010.

WICKHAM, H.; BRYAN, J. **readxl: Read Excel Files**. R package version 1.1.0, 2018.

ZANÃO JUNIOR, L. A., et al. Variabilidade espacial de atributos químicos em diferentes profundidades em um Latossolo em sistema de plantio direto. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.3, p. 429-438, 2010.

ZARDO FILHO, R. **Gesso agrícola e adubação nitrogenada na cultura do milho em sistema plantio direto**. Ponta Grossa, 2011. 138 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

ZEVIANI, W. M. **Análise intrabloco e interbloco de experimento em blocos incompletos tipo III**, LEG - UFPR, Ridículas, 2014. Disponível em: <<http://www.leg.ufpr.br/doku.php/ridiculas>>. Acesso em: 16 de set. de 2018.

## ANEXOS

### ANEXO A

Script gerado no R para a análise Interbloco do BIB. Fonte: ZEVIANI, 2014, adaptado pelo autor.

```
#-----
# Limpando a memória
rm(list=ls(all=TRUE))
#-----
# Carregando os dados e os pacotes
library(readxl)
library(agricolae)
bib3 <- read_excel("C:/Users/jovit/Desktop/analise dos dados/inicial/bib3.xlsx",
                  col_types = c("numeric", "numeric", "numeric"))
#-----
# Variáveis
bloc = bib3$bloc
bloc
trat = bib3$trat
trat
resp = bib3$resp
resp
bib3 <- transform(bib3, bloc=factor(bloc), trat=factor(trat))
str(bib3)
#-----
# número de ocorrência de tratamento com blocos e número de níveis dos fatores
with(bib3, table(trat, bloc))
levels(bib3$trat)
levels(bib3$bloc)
#-----
# análise interbloco
#-----
```



```

# ajuste do modelo, anova() não faz anova e sim teste de Wald sequencial para efeitos fixos
require(nlme)
mm0 <- lme(resp~trat, random=~1|bloc, data=bib3)
anova(mm0)

#-----

# checagem da normalidade efeitos/erros aleatórios
par(mfrow=c(1,2))
qqnorm(residuals(mm0)); qqline(residuals(mm0))
qqnorm(unlist(ranef(mm0))); qqline(unlist(ranef(mm0)))
layout(1)
#boxplot
boxplot(resp~trat)
boxplot(resp~bloc)
#shapiro
shapiro.test(residuals(mm0))
#Pontos influente
plot(mm0,which = 5)

#-----

# estimativa dos componetes de variância
VarCorr(mm0)

#-----

# matriz de contraste dos tratamentos
contr <- mm0$contrasts$trat
idx <- grep("trat", names(fixef(mm0)))

#-----

# médias ajustadas dos tratamentos
maju <- c(contr%*%fixef(mm0)[idx]+fixef(mm0)[1])
maju

#-----

# vetor de coeficientes do contraste tr1 vs tr2 e sua estimativa
contr <- rep(c(0, 1, -1, 0), c(1, 1, 1, nlevels(bib3$trat)-3)); contr
contr%*%maju

```

```

#-----
# variância do contraste, como tem equilíbrio, todos os contrastes tem mesma variância
v.dif <- contr%*%vcov(mm0)%*%contr; v.dif
#-----
# diferença mínima significativa pelo teste de Tukey
delta <- c(qtukey(0.90, nlevels(bib3$trat), anova(mm0)["trat","denDF"])*sqrt(0.10*v.dif))
delta
#-----
# aplicação do teste de Tukey
agricolae::order.stat(levels(bib3$trat), maju, delta, console = TRUE)
#-----
# gráfico de barras com as médias
taju <- agricolae::order.stat(levels(bib3$trat), maju, delta, console = TRUE)
taju2 <- taju$means
names(taju2) <- taju$trt
bp <- barplot(taju2,
               xlab="Tratamentos", ylab="Diâmetro em V3 (mm)",
               ylim=c(0, 1.2*max(taju2)))
text(bp, taju2,
      labels=paste(format(taju$means,dig=3), gsub(" ","",taju$M), sep="\n"), pos=3)
mtext(3, line=2,
      text="Comparação múltipla de médias", cex=1.5)
mtext(3, line=0.5,
      text="Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%)")
box()
#-----

```